FACULTE MIXTE DE MEDECINE & DE PHARMACIE

DE LYON

Année 1961 N° 483

TITRE DE LA THESE

CONTRIBUTION à l'étude du MICRO-DOSAGE colorimètrique du PALLADIUM par l'ALPHA-FURILDIOXIME APPLICATION à la détermination de l'OXYCARBONEMIE.

THESE

pour le Doctorat de l'Universite de Lyon

Section de Pharmacie

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

le 9 Juin 1961

par François WOINET

né le 3 août 1934 à Vienne (Isère).

PERSONNEL DE LA FACULTE

M. J. LEPINE : Doyen Honoraire

M. H. HERMANN : Doyen
Correspondant de l'Institut.

M.M. LEVRAT : Assesseur

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, , PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY.

PROFESSEURS

MM. HERMANN	Physiologie
CIBERT	Clinique Urologique
PONTHUS (détaché à Beyrouth)	- Physique Biologique
DECHAUME	Clinique Neuro-Psychiatrique et Hygiène mentale
ROCHET	Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire
CHAMBON	Chimie organique et Toxicologie
WERTHEIMER	Clinique Chirurgicale B
PAUPERT-RAVAULT	Clinique Médicale B
FROMENT	Clinique et Prophylaxie cardio-vasculaires
CROIZAT	Clinique Médicale C
ENSELME	Chimie biologique et médicale
MALLET-GUY	Clinique Chirurgicale A
GUILLEMINET	Clinique de Chirurgie orthopédique et de Chirurgie Infantile
REVOL	Pharmacie Galénique et Matière Médicale
POLLOSSON	Clinique Gynécologique
PIGEAUD	Clinique Obstétricale
BOURRET	Médecine du Travail
LEVRAT	Clinique Médicale A
SOHIER	Hygiène et Action sanitaire et sociale
DUCLOS	Clinique Stomatologique
BERNHEIM	Clinique Médicale infantile et Hygiène du premier âge
JOURDAN	Biologie Médicale et Pharmacodynamie
NETIEN	Botanique et Cryptogamie
BERTRAND	Clinique Chirurgicale C
BADINAND	Chimie Analytique Pharmaceutique
DREVON	Pharmacie et Pharmacologie
ROCHE	Médecine Légale et Déontologie
COUDERT	Parasitologie et Pathologie Exotique
MOUNIER-KUHN	Clinique d'Oto-Rhino-Laryngologie et d'Audio-Phonologie
PAUFIQUE	Clinique Ophtalmologique
THIERS	Clinique de Dermatologie, Syphiligraphie et Allergologie
BRUN	Clinique de Pneumo-Phtisiologie
CREYSSEL Jean	Clinique Traumatologique des Membres
DARGENT	Cancérologie
GUICHARD	Anatomie Pathologique
GIRARD Paul	Pathologie Générale et Expérimentale
LATARJET	Anatomie
PEYCELON	Pathologie Chirurgicale
GIRARD Marcel	Thérapeutique
VACHON	Pathologie Médicale
GALY	Physio-Pathologie des voies respiratoires
KEHL	Histologie
PAPILLON	Radiologie
JEUNE	Clinique des Maladies Infectieuses
GONIN	Hydrologie thérapeutique, climatologie et Ecologie sociale
MONNET	Bactériologie

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

BERGER	Physique nucléaire appliquée à la Médecine
DORCHE	Technologie Pharmaceutique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. BANSSILLON	Obstétrique	CIER Jean-François	Physiologie
ROMAN	Parasitologie	CHANTONNET	Physiologie
BERTOYE	Bactériologie		

MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES

MM. CIER André	Pharmacie et Pharmacologie
PERROT Louis	Chimie organique et Toxicologie
FEROLDI Jacques	Anatomie Pathologique
CREYSSEL Roger	Chimie biologique et Médicale
DUROUX Emile	Anatomie
BRETTE René	Thérapeutique
DUMONT Louis	Histologie
THIVOLET Jean	Hygiène
GARIN Jean-Paul	Parasitologie
MORET Robert	Physique
ODDOUX Lucien	Botanique et Cryptogamie

AGREGES EN EXERCICE

LECUIRE Jean	chargé d'enseignement	Neuro-chirurgie
MATHIEU Jacques		Obstétrique
MARION Joseph		Orthopédie
PONT Maurice	chargé d'enseignement	Propédeutique Médicale
VIGNON Georges	dº	Pathologie Médicale
REVOL Louis	dº	Pathologie médicale
JAUBERT DE BEAUJEU	dº	Pathologie chirurgicale
GUILLEMIN Georges	dº	Propédeutique chirurgicale
BURTHIAULT René	dº	Obstétrique
FRANCOIS René	dº	Pédiatrie, puériculture
GUINET Paul		Médecine Générale
SAUTOT Jean		Pathologie chirurgicale
MARION Pierre		Chirurgie Générale
MICHAUD Pierre		Chirurgie Générale
GIGNOUX Marcel		Oto-Rhino-Laryngologie
FREIDEL Charles		Stomatologie
PLAUCHU Marcel		Médecine Générale
TRAEGER Jules		Médecine Générale
DEVIC Michel	chargé d'enseignement	Pathologie Médicale
COLIN Marcel	dº	Médecine Légale
GUYOTAT Jean	dº	Neurologie
DUMONT Martial	dº	Obstétrique
DURAND Louis	dº	Urologie
de MOURGUES Georges	dº	Chirurgie Générale
DESPIERRES Charles	dº	Médecine Générale
FRANCILLON Jacques		Chirurgie Générale
TOLOT François		Médecine du Travail
SAUBIER Eugène		Chirurgie Générale
COLOMB Daniel		Dermatologie
SCHOTT Bernard		Neurologie, Psychiatrie
BONAMOUR Georges		Ophtamologie

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. CHAMBON
BADINAND
DORCHE
PERROT

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A MA FEMME

Elle a partagé mes soucis et mes joies.
Je lui dédie cet ouvrage en témoignage de mon amour.

A MES PARENTS

Faible témoignage d'affection et de reconnaissance
pour tout ce que je leur dois.

A MES BEAUX-PARENTS

En affectueux hommage.

A TOUS LES MIENS

A MES CAMARADES de l'INTERNAT en PHARMACIE des Hôpitaux de LYON.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR le PROFESSEUR M. CHAMBON
Professeur de Chimie organique et de Toxicologie
Pharmacien des hôpitaux
Officier de la Légion d'Honneur

Nous remercions Monsieur le Professeur Chambon de nous avoir fait bénéficier, tant dans son laboratoire qu'à l'hôpital, de la richesse de son enseignement. Il nous a fait le très grand honneur d'accepter la Présidence de notre Jury. Qu'il nous permette de lui adresser l'expression de notre entier dévouement et de nos remerciements respectueux.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BADINAND

Professeur de Chimie Analytique Pharmaceutique
Pharmacien des hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur

Nous avons toujours trouvé auprès de Monsieur le Professeur Badinand l'accueil le plus cordial. Nous le remercions très vivement d'avoir consenti à juger ce travail.

MONSIEUR le PROFESSEUR J. DORCHE

Professeur de Technologie Pharmaceutique
Pharmacien des hôpitaux

Monsieur le Professeur Dorche nous a toujours manifesté une grande bienveillance tant à la Faculté qu'à l'hôpital.

Il a bien voulu accepter d'être notre Juge, nous le prions de trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

MONSIEUR le PROFESSEUR L. PERROT.

Professeur sans chaire
Pharmacien des hôpitaux

Monsieur le Professeur Perrot a été l'instigateur de ce travail. Il en a suivit pas à pas la progression. Ses conseils judicieux et sa compétence technique furent pour nous des plus précieux. Nous avons trouvé, dans son laboratoire et à discrétion, le matériel scientifique qui a permis la réalisation de ce travail. Qu'il trouve ici le témoignage de notre attachement respectueux et l'expression de notre sincère reconnaissance.

A MONSIEUR le PHARMACIEN-COMMANDANT L. GAMOTY

Il nous a donné toutes facilités pour l'achèvement de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de mes sentiments les plus respectueux.

A nos MAITRES de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de LYON.

INTRODUCTION

L'amélioration constante des appareils photocolorimètriques pousse à la substitution des techniques gravimètriques et volumètriques classiques par des méthodes colorimètriques de manipulation plus simple et plus rapide.

L'emploi des spectrophotomètres modernes permet, par le choix précis de la longueur d'onde optima, l'obtention d'une sensibilité de loin supérieure à celle fournie par les techniques classiques.

D'autre part, la chimie actuelle procure à l'analyste une quantité toujours plus variée de réactifs organiques qui sont venus compléter avec bonheur la gamme parfois assez étroite des réactifs minéraux quantitatifs.

Les progrès réalisés dans le dosage colorimètrique des traces de métaux par formation de complexes colorés métallo-organiques sont des plus intéressants. La colorimètrie de ces complexes apporte une sensibilité et une spécificité jusqu'alors inaccessibles.

C'est ainsi que le dosage de traces de palladium, même en présence d'autres ions métalliques, nous fut présenté comme réalisable par la littérature scientifique récente.

Cette donnée, d'un intérêt pratique indiscutable, nous parut digne d'approfondissement.

La réalisation d'un microdosage colorimètrique du palladium, ainsi que son application éventuelle à une technique palladomètrique d'évaluation de l'oxycarbonémie, se sont imposées comme base de travail.

PREMIERE PARTIE

L'ALPHA - FURILDIOXIME, micro-réactif du PALLADIUM

CHAPITRE I

Rappel de quelques techniques de microdosage du palladium

La formation de complexes colorés entre le palladium ou ses sels et certains réactifs organiques est une notion assez ancienne qui permet des déterminations qualitatives du palladium des plus sensibles. Mais ce n'est que depuis peu que certains auteurs étudièrent les possibilités de dosages colorimètriques qui pouvaient en découler.

Nous proposons un rapide aperçu des techniques de dosage de petites quantités de palladium plus ou moins récemment mises au point.

Les méthodes gravimètriques citées par Charlot et Bezier (10), ou par Pascal (32), électrolytiques, pondérales par pesée du complexe palladium-diméthylglyoxime (5) ou de l'iodure palladeux (4) ne sont valables que pour des quantités de palladium métal de l'ordre du milligramme. La polarographie permet le dosage de micro-quantité de palladium, mais elle exige un matériel spécialisé (2).

Certains auteurs ont également mis au point des micro-volumètries intéressantes, qui cependant ne permettent pas d'évaluer les quelques micro-grammes de palladium que nous désirons doser. Ainsi, nous pouvons mentionner les méthodes cyano-argentimètriques (8), cyano-iodomètriques (20) et complexomètriques (23).

---

(10) CHARLOT et BEZIER - Méthodes modernes d'analyse quantitative minérale. Ed. Masson ; 1949, 625-627
(32) PASCAL - Traité de Chimie minérale - t. XI, 784
(5) BEAMISH F. et SCOTT M.- Ind. Engng. Chem. Anal. ; 1937, 9, 460-463
(4) BEAMISH F. et DALE J. - Ind. Engng. Chem. Anal. ; 1938, 10, 697-698
(2) BADINAND A., BOURCHERLE A., SERUSCLAT F.- J. Med. Bordeaux 1957, 5, 621
(8) CHAMBON M. - Ann. Biol. Cli. ; 1950, 4, 520-522
(20) LAUBIE M. - Thèse en Pharmacie. Bordeaux - 1957
(23) MAC NEVIN W.M., KRIEGE O.H.- Anal. Chem. ; 1955, 27, 535-536

La détermination colorimètrique du palladium est la mieux adaptée aux faibles quantités de ce métal. Nous nous sommes inspirés pour ce rappel d'un article de E.B. SANDELL (43).

Le groupe de la nitrosophénylamine était considéré comme renfermant les meilleurs réactifs colorés des sels du palladium. Ainsi, le p-nitroso-diméthylaniline donne un complexe rouge-brique $[Pd(NO\,C_6H_4\,N\,(CH_3)_2]\,2\,Cl$, en milieu acide faiblement chlorhydrique (28). Le p-nitroso-diphénylamine peut également être utilisé pour le dosage colorimètrique du palladium à pH 2,1 (50).

Le premier est préférable en solution pure, car il donne une coloration rapide, plus stable et plus propice à une détermination spectrophotomètrique. Cependant, en pratique courante, le dérivé diphénylé peut être préféré car il est utilisable en présence de Fe^{++}, Cu^{++}, Au^{++}. Pour les deux, le pH du milieu réactionnel doit être déterminé avec précision. Leur technique de manipulation est identique, la seule différence est dans le pH des solutions et la durée du repos avant l'évaluation colorimètrique. Les oxydants, les ions CN^- et I^- gènent ainsi que Pt^{++}.

Plus récemment (1954), Yoe et Kirland (49) ont décrit une méthode dans laquelle le palladium est évalué à l'aide du p-nitroso-diphénylamine après séparation du palladium de la plupart des métaux du groupe du platine par extraction des sels de diéthyldithiocarbamate de ces métaux.

Les dioximates : le palladium peut être dosé grâce à différents dioximates par mesure de l'intensité du complexe jaune obtenu après extraction chloroformique.

Le diméthylglyoxime n'est pas très approprié car sa sensibilité est relativement faible.

---

(43) SANDELL E.B. - Interscience publishers, New-York ; 1959, 714-720

(28) OVERHOLSER L.G. et YOE J.H. - J. Amer. Chem. Soc. ; 1941, 63, 3224-3229

(50) YOE J.H., OVERHOLSER L.G.- J. Amer.Chem. Soc.; 1939, 61, 2058-2063

(49) YOE J.H., KIRLAND J.J.- Anal. Chem. ; 1954, 26, 1335

L'alpha-furildioxime est un bien meilleur réactif donnant une sensibilité de 0,005 µg/cm2 pour log Iδ/I = 0,001 à 380 mµ.
La coloration est stable ; Pt^{++}, Rh^{++}, Au^{++}, Ru^{++} ne gênent pas de même que NO_3^-, SO_4^-, ClO_4^-, F^-. Seul CN^- empêche la formation du complexe (24).

La béta-furfuraldoxime donne une réaction beaucoup moins sélective (17). Cependant elle permet un dosage photomètrique de micro-grammes quantités de palladium (42).

Les orto-hydroxyoximes furent également étudiées avec succès en vue du dosage colorimètrique des sels palladeux en présence d'autres éléments (34).

Le 2-nitroso-1-naphtol à pH 2,5 précipite le Pd en un chélate violet soluble dans le toluène que l'on peut évaluer à 370 mµ (11).
De même, le 1-nitroso-2-naphtol forme avec Pd un complexe rouge soluble dans la pyridine. Cette réaction fut utilisée par Fabre, Truhaut et Berrod (14).

Le 3-hydroxy-1-p-sulfonatophényl-3-phényltriazine donne avec le Pd^{++} un complexe soluble à pH 1,4-4,4, et qui peut servir à un dosage colorimètrique d'une sensibilité de 0,0036 µg de Pd/cm2 à 420 mµ. Les métaux de la mine du platine sont sans action à l'opposé du Fe, Cu, Pd et Au (45).

Le diéthylaminobenzylidenerhodanine réagit avec Pd^{++} en solution chlorhydrique diluée pour donner un complexe rouge facilement soluble qui peut servir à un dosage colorimètrique. Bien que sensible, cette réaction n'est que peu intéressante du point de vue pratique, car l'or donne à l'état de traces une coloration identique (29).

---

(24) MENIS O., RAINS T.C.- Anal. Chem. ; 1955, 27, 1932-1934
(17) HAYES J.R., CHANDLEE G.C. - Ind. Engng. Chem. (anal. ed.) ; 1942, 14, 491-493
(42) RICE W. - Anal. Chem. - 1952, 24, 1995, 1997
(34) PESHKOVA V.M., SHLENSKAYA V.I., RASHEVSKAYA A.I.- Vestn. Moskovsk. univ. ; 1954, 5, 83
(11) CHENG K.L. - Anal. Chem. ; 1954, 26, 1894-1895
(14) FABRE R., TRUHAUT R., BERROD F. - Ann. Pharm. Fr. ; 1951, 9, 625
(45) SOGANI N.C., BHATTACHARYYA S.C. - Anal. Chem. ; 1957, 29, 397-400
(29) OKAMOTO K., MIKAMI G., NISIDA M. - Acta schol. med. univ. imp. Kioto ; 1939, 22, 382

D'autres réactifs donnant des complexes colorés avec le palladium peuvent être mentionnés : l'acide mercapto-acétique (19), l'acide éthylène-diamino-tétra-acétique, le 2-mercapto-4-5-diméthylthiazole, la thiourée, le chlorure d'étain (37),... par ex..

Il nous faut également rappeler la coloration rose-rouge donnée par un excès d'iodure de potassium en milieu légèrement chlorhydrique. Cette réaction, ni très sensible, ni très spécifique fut utilisée par de nombreux auteurs pour la mise au point d'un dosage palladométrique de l'oxycarbonémie.

Mentionnons enfin, l'étude de Laubie (20) sur les complexes colorés que forme le chlorure palladeux avec le thiocyanate, le vanadate et le bromure d'ammonium. Mais le spectre d'absorption de ces complexes présente des maxima situés nettement dans l'ultra-violet. Leur colorimètrie nécessiterait l'emploi d'un spectrophotomètre à UV.

De cette énumération, nous pouvons conclure à l'apparente supériorité tant au point de vue sensibilité que spécificité de l'alpha-furildioxime sur les autres réactifs quantitatifs du palladium jusqu'alors étudiés.
Une étude plus approfondie du travail de Menis et de Rains nous parut judicieuse.

---

(19) KONIG O., CROWELL W.R. - Mikrochem. ver. Mikrochim. Acta ; 1948, 33, 298-300
(37) POLLARD W.B. - Analyst ; 1942, 67, 184-186
(20) LAUBIE M. - Thèse en Pharmacie. Bordeaux - 1957

CHAPITRE II

L' ALPHA-FURILDIOXIME

A) Sources bibliographiques

Oscar Menis et T.C. Rains étudièrent les premiers le dosage colorimètrique des sels palladeux par l'alpha-furildioxime en 1955. (24)

Voici le résumé de leurs constatations :

Le palladium forme avec ce réactif en milieu acide (HCl 0,1 à 1,4 N) un complexe jaune dont l'intensité obéit à la loi de Beer - Lambert à 420 mμ. Ce complexe coloré peut être extrait en totalité par le chloroforme, au sein duquel il obéit également à la loi de Beer - Lambert mais à 380 mμ.

En milieu aqueux, en présence de 10 % d'alcool éthylique pour une concentration de 5 μg de palladium par ml du volume final, le complexe coloré est stable vingt minutes, après quoi l'absorption décroît lentement.

En milieu organique, la coloration est stable au moins 24 heures. Ce réactif est hautement spécifique du palladium. Les métaux du groupe du platine et de l'or n'influent pas. En présence d'ions fortement colorés, l'extraction par le chloroforme élimine les causes d'erreur. Seuls les ions CN^- gênent car ils empêchent la formation du complexe "Pd-alpha-furildioxime".

La réaction est très sensible, une concentration aussi faible que 0,1 p.p.m. de palladium peut être déterminée dans une cellule de 5 cm. La précision par lecture au maximum d'absorption est supérieure à 1 %.

---

(24) MENIS C. et RAINS T.C. - Anal. Chem. - 1955, 27, 1932-1934

Ces auteurs utilisèrent une solution titrée de chlorure palladeux préparée par dissolution du chlorure dans l'acide chlorhydrique, et vérifiée gravimètriquement par la méthode à la diméthylglyoxime.

Ils préparèrent également une solution à 1 % d'alpha-furildioxime par dissolution de 1 g du réactif dans 30 ml d'alcool éthylique absolu, suivie d'une dilution par l'eau distillée à 100 ml.

Ils étudièrent la courbe d'absorption molaire du complexe Pd-alpha-furildioxime dans les conditions suivantes :

En milieu hydro-alcoolique

Le complexe jaune fut obtenu à partir d'une quantité de solution titrée de chlorure palladeux correspondant à 50 µg. de Pd métal, mesurée dans un ballon jaugé de 25 ml à laquelle furent ajoutés successivement :

1 ml d'acide chlorhydrique concentré.
2,5 ml d'alcool absolu
10 ml d'eau distillée
1 ml de la solution à 1 % d'alpha-furildioxime
puis eau dist. pour compléter à 25 ml.

La courbe montre un clocher d'absorption à 420 mµ .
Le réactif purifié ne doit pas absorber à cette longueur d'onde, tandis que le réactif non purifié absorbe seulement légèrement.

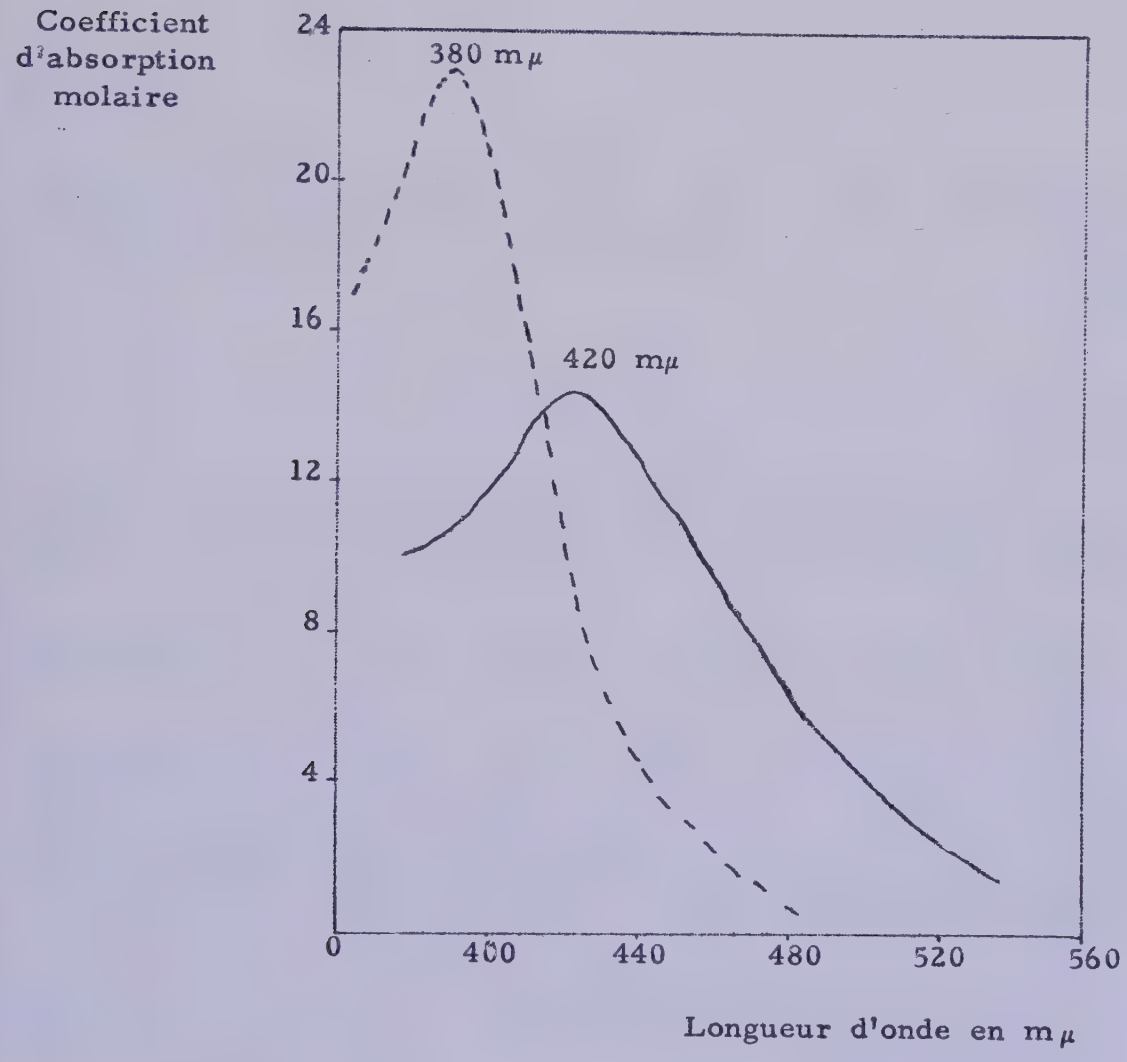
En milieu organique (chloroformique)

Le complexe fut obtenu par addition à une prise d'essai correspondant à 74 µg. de Pd métal placé dans une ampoule à décancation de 30 ml de :

1 ml d'acide chlorhydrique concentré.
1 ml de la solution d'alpha-furildioxime
QS de chloroforme pour extraire le complexe coloré par agitation pendant vingt secondes.

La phase organique est soutirée et recueillie dans un ballon jaugé de 25 ml. 0,50 g. de sulfate de sodium anhydre y sont ajoutés, et l'on complète à 25 ml par du chloroforme. Après filtration, le complexe montre un clocher à 380 mµ .

Voici la courbe d'absorption molaire du complexe "Pd - alpha-furildioxime" qu'ils obtinrent :



———————— en milieu aqueux

---------- en milieu chloroformique.

Stabilité de la coloration

Les solutions contenant de basses concentrations en palladium donnent des colorations stables pendant 2 heures. Mais pour les solutions renfermant de plus hautes concentrations, une diminution progressive de l'absorption est observée après vingt minutes.

La coloration en milieu chloroformique est stable pendant 24 heures.

Intéressés par ces travaux initiaux sur l'alpha-furildioxime décrit comme réactif quantitatif de valeur pour le palladium, nous avons résolu de réaliser un micro-dosage colorimètrique pratique du palladium et d'en étudier ses applications, principalement au dosage palladomètrique de l'oxycarbonémie.

B) Synthèse de l'alpha-furildioxime

Nos recherches pouvant exiger une assez grosse quantité de ce réactif relativement onéreux, nous avons entrepris sa préparation en nous inspirant de la publication de Hartman et Dicky (18).

L'alpha-furildioxime peut être obtenue à partir du furfural, en passant par les stades furoïne et furil.

Préparation de la furoïne :

La furoïne fut obtenue avec de bons rendements par la méthode de Fischer légèrement modifiée. (15)

Dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant, nous avons placé :

100 g de furfural fraîchement distillé
200 g d'eau distillée
75 ml d'alcool éthylique à 95°

---

(18) HARTMAN W.W., DICKY J.B. - J. Amer. Chem. Soc. ; 1933, 55, 1228-1229

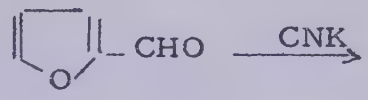
(15) FISCHER E. - Ann. Chem. ; 1882, 211, 214-238

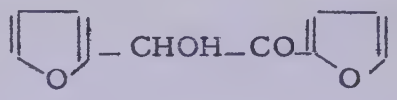
Le milieu réactionnel est alors chauffé à l'ébullition. Nous éloignons la flamme. Quand l'ébullition a cessé, nous ajoutons tout en agitant une solution obtenue par dissolution de 5 g de cyanure de potassium dans 15 ml d'eau.

Le mélange entre de nouveau en ébullition (chaleur de réaction) que nous maintenons par chauffage pendant 5 minutes.

La solution est acidifiée au papier de tournesol par l'acide acétique puis placée pour cristalliser une nuit dans un lieu frais, en agitant au début du refroidissement.

Le produit brun et gluant obtenu contient du furfural en excès n'ayant pas réagi.

La réaction s'écrit : 2  furfural

 furoïne

Après une nuit de glacière, le précipité est essoré, lavé par 300 ml d'eau glacée et 150 ml d'alcool méthylique glacé. Nous faisons recristalliser dans l'alcool éthylique après dissolution à chaud. Nous obtenons un précipité jaune qui légèrement humide d'alcool pèse 50 grammes.

Purification de la furoïne

Une nouvelle recristallisation dans un minimum d'alcool méthylique nous permet d'obtenir après essorage au büchner et dessication, 24 g de produit sec se présentant en cristaux chamois-pâle. Une dernière cristallisation dans l'alcool méthylique glacé, et la concentration des liquides de cristallisation et de lavage, nous donne finalement 23 g de produit pur de pF 137 - 138°. Le rendement par rapport au furfural a donc été de 23 %.

Préparation du furil

Nous l'avons préparé en deux fois, chaque fois à partir de 10 g de furoïne obtenue ci-dessus, suivant la méthode à l'iode décrite par Corson et Mac Allister. (13)

10 g de furoïne sont dissous dans 225 ml d'alcool méthylique bouillant. A la solution chaude, nous additionnons une solution chaude de méthylate de sodium que nous avons préparée extemporanément en dissolvant 2,5 g de sodium dans 50 ml d'alcool méthylique pur.

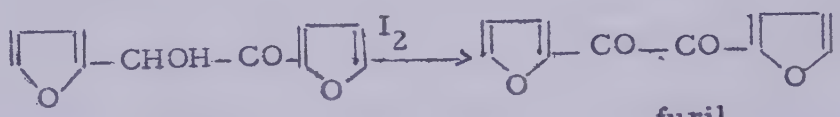
---

(13) CORSON B.B., MAC ALLISTER R.W. - J. Amer. Chem. Soc. ; 1929, 51, 2822-2825

A la solution bouillante, sont ajoutés en 3 portions 14 g d'iode. Nous obtenons une solution brune.

Par refroidissement, le furil commence à cristalliser.

Nous obtenons au total, après cristallisation et concentration des eaux-mères, 14 g de furil qui se présente sous forme d'aiguilles jaune-fauve de pF 166°.
Rendement de la réaction : 70 %

Elle s'écrit : 

furoïne furil

Préparation de l'alpha-furildioxime

Nous avons fait un premier essai suivant le procédé préconisé par Reed, Banks et Diehl. (41)
Un ballon équipé avec un extracteur de Soxhlet est chargé avec :
170 g d'alcool méthylique
11 g d'hydroxyamine

Dans la cartouche nous plaçons 10 g du furil obtenu ci-dessus. Nous chauffons à température inférieure à 95°. Puis nous distillons, sous pression réduite, l'alcool méthylique à température inférieure à 35°. Nous constatons que malgré ces précautions il y a formation de goudron. Nous décolorons au noir Norit. Nous filtrons la solution chaude sur büchner. Par refroidissement l'alpha-furildioxime cristallise. En fait cette cristallisation fut très pénible car gênée par les goudrons qui ne purent être éliminés parfaitement par le noir Norit sans risque de perdre une partie du réactif ainsi obtenu. Ce ne fut qu'après de nombreuses recristallisations dans le benzène que nous pûmes obtenir un précipité à peu près blanc.

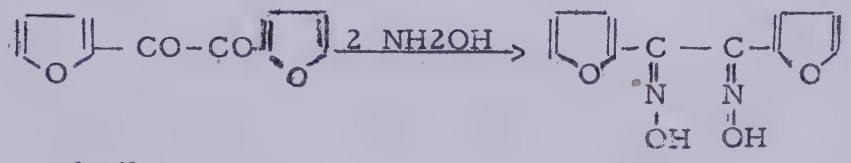
Aussi, afin d'éviter la formation de goudron, avons-nous mis au point une méthode à froid.
Dans un cristallisoir nous mettons : alcool méthylique 300 g
furil 5 g

Nous faisons dissoudre à 50° ; nous ajoutons ensuite à la solution chaude : chlorhydrate d'hydroxylamine 3,50 g
Eau distillée 20 g

(41) REED S.A., BANKS C.V. et DIEHL H. - J. Org. Chem. - 1947, 12, 792 - 793

Nous laissons en contact 48 heures. Nous additionnons de la soude au 1/10 QS pour neutraliser l'acide chlorhydrique libéré. Nous reprenons par le benzène qui laisse le résidu de goudron et de chlorure de sodium. La solution benzènique est mise à évaporer. L'alpha-furildioxime cristallise en cristaux blancs de pF 84 - 85° à 1 H_2O.

La réaction s'écrit :



furil — furildioxime

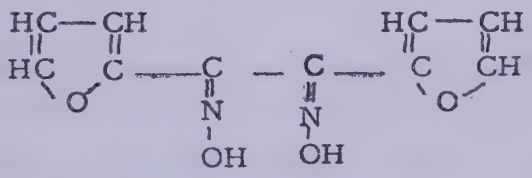
Nous avons obtenu près de 2 g d'alpha-furildioxime pour 5 g de furil, soit un rendement de 40 %.

C) Propriétés et étude de la spécificité de l'alpha-furildioxime.

a) Propriétés de la furildioxime (30)

- Formule brute : $C_{10}\ H_8\ O_4\ N_2$

- Formule développée :



- Poids moléculaire : 220,1

L'alpha-furildioxime se présente en poudre blanche quand elle est très pure. Elle est soluble dans l'alcool éthylique, l'éther, mais très peu soluble dans l'eau.

Sa préparation aboutit à un mélange égal des formes anti et amphi isomères. Synthétisée, elle peut être transformée en forme (syn) par la méthode de Macnair (22).
Le spectre d'absorption de ces trois formes est identique.

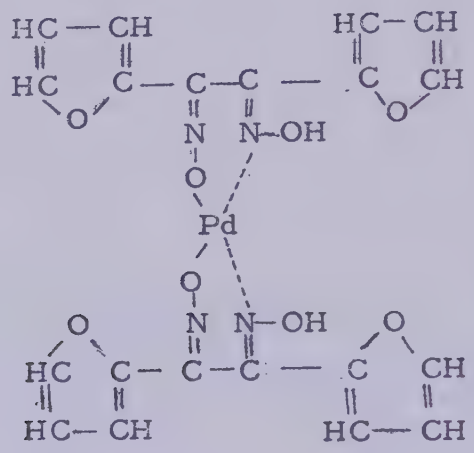
---

(22) MACNAIR D.S. - Ann. Chem. ; 1890, 258, 220-230

(30) PALLAUD R. - Chim. Anal. ; 1951, 33, 239-244

Les complexes qu'elle fournit en présence d'ions métalliques sont du type : $M(C_{10}H_7O_4N_2)_2$, formule où M représente un ion métallique divalent. (38)

Ainsi, en présence d'ions Pd^{++}, nous obtenons un complexe de formule développée :



b) Etude de la spécificité de l'alpha-furildioxime.

L'alpha-furildioxime nous est présentée comme un réactif assez sélectif puisqu'elle ne réagit pas avec la plupart des cations, ce qui est le cas pour :

Fe^{+++}, Cu^{++}, Mn^{++}, Cr^{+++}, Mo^{4+}, Pb^{++}, Cd^{++}, Au^{+++}, Na^{+} Th^{+}, U^{+}.... et même avec les métaux de la mine du platine tels que Pt, Ir et Os. (24)

Parmi les anions, seul CN^{-} inhibe le complexe et nécessite d'être éliminé avant un dosage par la furildioxime.

Cependant de rares cations réagissent quantitativement avec ce réactif et peuvent être dosés par l'alpha-furildioxime. Ainsi, le nickel est dosé colorimètriquement en formant le complexe (Ni-alpha-furildioxime) qui est extractible dans le 1-2-dichlorobenzène. La densité optique du complexe coloré en jaune est évaluée à 438 mμ. (16)

---

(38) PSCHEMISTSYN N.K., NEKRASOVA G.A. - Chem. Abstracts ; 1956, 9926 c

(24) MENIS O., RAINS T.C.- Anal. Chem. ; 1955, 27, 1932-1934

(16) GAHLER, MITCHELL, MELLON - Anal. Chem. ; 1951, 23, 500-503

De même, le rhénium forme avec ce réactif des solutions jaune-orange, orange, ou rouge-framboise suivant les quantités de réactif. Le complexe rouge est extractible en milieu chloroformique. La coloration obtenue obéit à la loi de Beer - Lambert, et est utilisable pour le dosage colorimètrique du rhénium, le maximum d'absorption étant situé à 533 mμ (33).

Pour Reed et Banks (40), l'alpha-furildioxime fut reconnue comme étant un meilleur réactif que le diméthylglyoxime quant au nickel et au palladium. Dans les conditions optima, 1 mg de nickel peut être détecté dans 6 litres d'eau, et 1 mg de palladium dans 20 litres d'eau. L'alpha-furildioxime donne une précipitation complète du palladium. Il est possible de séparer le palladium du nickel, platine, cobalt, fer et de beaucoup d'autres métaux par une simple précipitation à partir d'une solution très acide d'un sel minéral.
Le précipité de "Pd-alpha-furildioxime" peut être séché puis pesé, ou bien il peut être incinéré jusqu'au métal.

Nous avons tenu à vérifier personnellement la spécificité de l'alpha-furildioxime en étudiant, dans le visible, son action sur les principaux ions métalliques. La spécificité du réactif est en effet d'un grand intérêt car le palladium, sous forme métallique ou de sel, est généralement souillé par d'autres ions métalliques. Elle garantit dans de telles conditions la valeur d'un dosage.

Nous avons fait agir l'alpha-furildioxime sur des prises d'essai supérieures à 500 μg des sels suivants :
Cl_3Al, NO_3Ag, SO_4Cu, SO_4Fe, $(SO_4)_3Fe_2$, SO_4Zn, $(CH_3CO_2)_2Pb$:
aucune coloration n'est décelable, en milieu acide.

Cl_3Au, Cl_4Pt, Cl_3Fe ne réagissent pas. Cependant, la coloration jaune de ces sels peut fausser un dosage s'ils se trouvent en trop grand excès par rapport au palladium dans le milieu réactionnel. Il en est de même avec les ions fortement colorés comme ceux du cobalt. Ces ions gênant peuvent être facilement éliminés par filtration, après avoir précipité le palladium à l'état de complexe "Pd-alpha-furildioxime" insoluble en milieu aqueux.

---

(33) PESHKOVA V.M., GROMOVA M.I.- Chem. Abstracts ; 1953, 5301 g

(40) REED S.A., BANKS C.V. - Proc. Iowa. acad. Sci. ; 1948, 55, 267-275

Le nickel, en milieu acide (pH<6) ne donne aucune réaction. En milieu ammoniacal, il se forme par contre un abondant précipité rouge-framboise. Mais, d'après Peshkova, l'utilisation de l'alpha-furildioxime comme réactif de ce métal est assez limité par le fait que la composition des complexes du nickel varie avec le pH des solutions desquelles il précipite. (35) (pH 6,2 à pH 10,5)

Nous avons également vérifié, qu'en milieu ammoniacal, ni l'or, ni le platine ne fournissaient de réaction.

En résumé, de tous les ions métalliques testés, seul le palladium donne, en milieu acide, (pH < 6) une réaction avec l'alpha-furildioxime. Cette spécificité incomparable donne toute sa valeur à ce réactif du palladium.

---

(35) PESHKOVA V.M., GONCHARAVO G.A., GRIBOVA Ye.A., PUZDRENKOVA I.V. - Zh. anal. khim. ; 1953, 8, 114

CHAPITRE III

Mise au point d'un micro-dosage colorimètrique du palladium par l'alpha-furildioxime.

Grâce à l'alpha-furildioxime ainsi préparée et en nous inspirant des données de Menis et de Rains exposées ci-dessus (24), nous avons entrepris la vérification des travaux antérieurs, puis l'étude systématique de l'influence des différents facteurs sur la réaction colorée proposée.

A) Vérification des travaux antérieurs

1- Etude de la réaction en milieu hydro-alcoolique

Recherche du maximum d'absorption

Nous étudions la courbe d'absorption du complexe coloré au spectrophotomètre de Jobin et Yvon, dans les conditions suivantes :

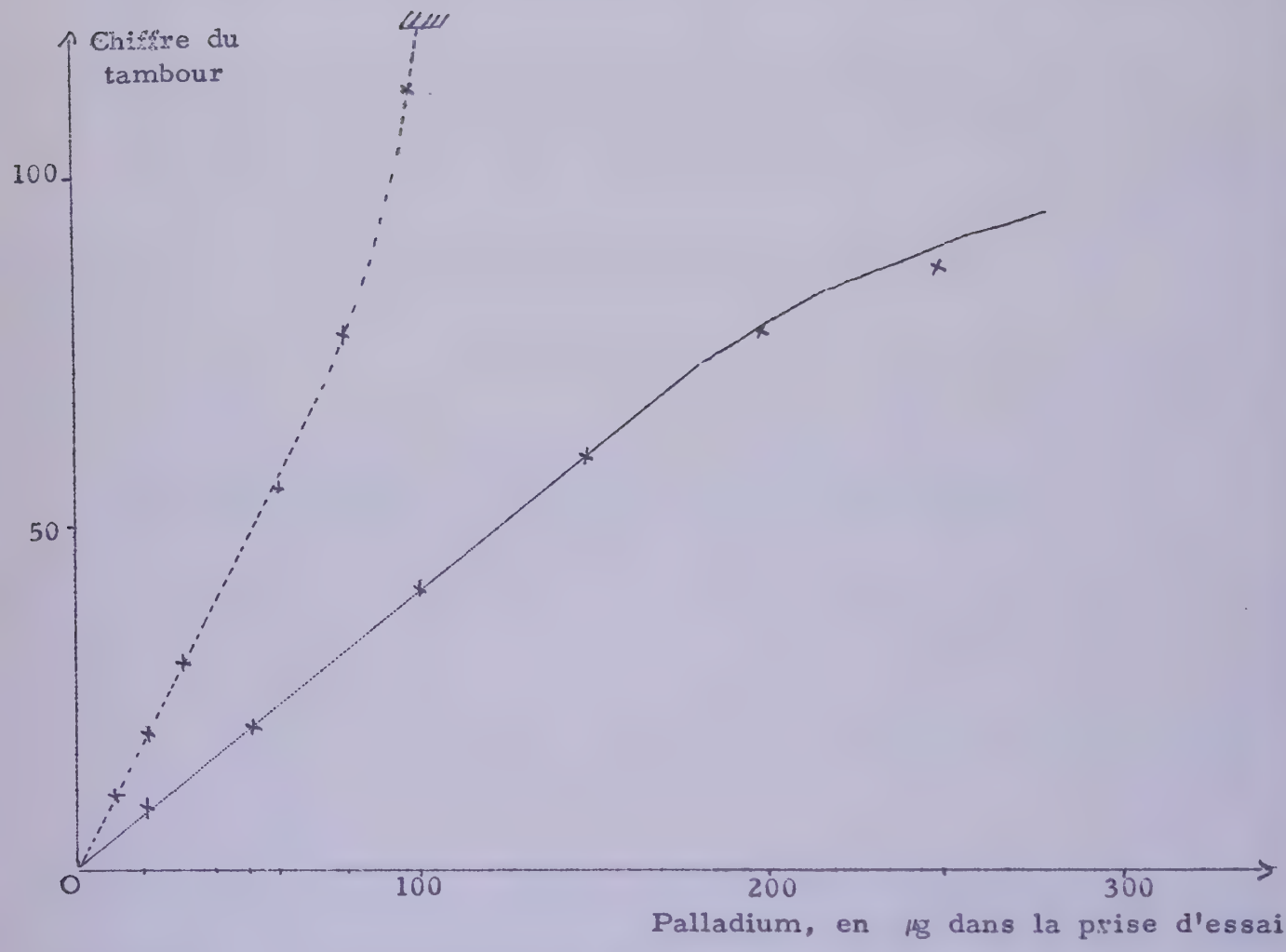
Solution acide de chlorure palladeux	QS pour	50 µg de Pd
Acide chlorhydrique concentré		1 ml
Alcool éthylique absolu		2,5 ml
Eau distillée		10 ml
Solution d'alpha-furildioxime à 1 %		1 ml
Eau distillée	QS pour	25 ml

Nous faisons parallèlement un témoin dans les mêmes conditions mais sans palladium.
Nous obtenons une courbe d'absorption ayant un maximum situé à 420 mµ (cf. courbe II)

Essai d'étalonnage

Nous utilisons une solution titrée en palladium obtenue par dissolution de palladium métal dans un minimum d'eau régale et amenée par dilution avec de l'eau distillée au titre de 100 microgrammes/ml.

Nous répartissons des parties aliquotes de cette solution titrée dans des ballons jaugés à 25 ml, auxquelles nous ajoutons :



COURBE I - Courbes d'étalonnage faites à l'électrophotomètre de Meunier
Ecran 43 (violet), diaphragmes 10 - 10.
---------- complexe en milieu hydro-alcoolique
_____ complexe en milieu chloroformique.

Acide chlorhydrique concentré		1 ml
Alcool éthylique absolu		2,5 ml
Eau distillée		10 ml
Solution d'alpha-furildioxime à 1 %		1 ml
Eau dist.	QS pour	25 ml

Après un repos de dix minutes, nous photomètrons la gamme à l'électrophotomètre de Meunier (écran 43), puis au spectrophotomètre de Jobin et Yvon à 420 mμ, dans une cuve rufisque sous 1 cm d'épaisseur.

Nous retranchons aux valeurs trouvées celle du témoin (absorption de base).

Nous obtenons une droite passant par l'origine pour des concentrations en palladium dans la prise d'essai allant de 0 à 60 μg. Au delà la courbe s'incurve, car pour des concentrations supérieures à 80 μg, il apparaît un trouble, dû à l'insolubilité du complexe, dès le premier quart d'heure après l'addition du réactif. (cf. courbe I)

De plus, pour les plus faibles concentrations, l'intensité de la coloration décroît rapidement avec le temps.

Ces faits rendent cette réaction difficilement praticable en milieu hydro-alcoolique, car les limites dans lesquelles la loi de Beer-Lambert est valable, sont trop restreintes.

Des essais en présence de concentrations alcooliques supérieures, n'ont pas donné des résultats plus satisfaisants.

2- Etude de la réaction avec extraction chloroformique

Recherche du maximum d'absorption

Cette recherche est faite dans les conditions suivantes :

Solution acide de chlorure palladeux	QS pour	50 μg de Pd
Acide chlorhydrique conc.		1 ml
Solution à 1 % d'alpha-furildioxime		1 ml
Chloroforme	environ	10 ml

Le tout dans une ampoule à décantation.
Après une agitation vigoureuse de vingt secondes, nous décantons la couche chloroformique dans un ballon jaugé de 25 ml.

Après addition de 0,50 g de sulfate de sodium anhydre et agitation, nous complétons à 25 ml, puis nous filtrons.
Un témoin sans palladium est conduit dans les mêmes conditions. Nous obtenons au spectrophotomètre de Jobin et Yvon une courbe d'absorption possédant un clocher à 382 mμ . (cf. courbe II).

Essai d'étalonnage

Cet essai est pratiqué dans les mêmes conditions avec des parties aliquotes d'une solution de chlorure palladeux titrée à 100 μg de palladium par ml.

Nous procédons aux lectures à l'électrophotomètre de Meunier (écran violet 43) et au spectrophotomètre de Jobin et Yvon à 382 mμ .

Nous obtenons des droites passant par l'origine pour des concentrations en palladium dans la prise d'essai, allant de 10 à 200 μg. Au delà la courbe s'infléchie progressivement, la loi de Beer-Lambert n'est plus valable (cf. courbe I)

L'intensité de la coloration jaune obtenue est d'une bonne stabilité, supérieure à 24 heures.

Nous remarquons que pour les fortes concentrations en palladium (supérieures à 120 μg), il est nécessaire de procéder à plusieurs extractions au chloroforme avec agitations vigoureuses répétées. Un temps de latence s'impose pour réaliser un complet développement de la réaction colorée. Un large excès de réactif facilite ce développement.

Nous constatons également que le complexe coloré est extractible par le benzène et le toluène.

B) Essais de solubilisation du complexe (Pd-alpha-furildioxime)

Ce complexe est pratiquement insoluble en milieu aqueux. On ne peut y envisager un dosage colorimètrique, alors qu'un dosage gravimètrique portant sur des quantités de palladium de l'ordre du milligramme, pourrait être facilement réalisé. (cf. chapitre IV)

Nous venons de voir que la faible solubilité de ce complexe en milieu hydro-alcoolique limite fortement un dosage colorimètrique.

Par contre cette solubilité est très satisfaisante dans les solvants organiques tels que le chloroforme ou le toluène. Mais ces solvants non miscibles à l'eau exigent des extractions suivies de filtration, ce qui impose des manipulations supplémentaires.

C'est pourquoi nous avons cherché à augmenter la solubilité du complexe coloré par addition au milieu réactionnel de divers solvants miscibles à l'eau.

L'addition d'alcools méthylique, éthylique ou butylique ne permet qu'une solubilisation du complexe inférieure à 200 µg de palladium dans 25 ml du milieu réactionnel.

En milieu hydro-acétonique, la solubilité du complexe est assez intéressante. Mais l'intensité de la coloration jaune est fortement atténuée et le maximum de la courbe d'absorption est déplacé à 325 mµ . Le dosage colorimètrique y perdrait dans ces conditions beaucoup de sa sensibilité, surtout en utilisant un électrophotomètre de type courant.

En milieu hydro-ammoniacal : le complexe est soluble d'une façon satisfaisante en présence d'un fort pourcentage d'ammoniaque, (par exemple 65 % d'ammoniaque de densité 0,925).

Mais l'ammoniaque donne avec l'alpha-furildioxime une coloration jaune qui fausse le dosage colorimètrique du palladium.

Nous avons obtenu des résultats similaires en présence d'autres solutions alcalines (soude ou potasse).

Par analogie avec la remarque de ZIEGLER (51) sur la solubilisation du complexe (Pd-piaselenole), un essai d'addition de cyanure de potassium au milieu réactionnel entraine la disparition du précipité, mais aussi celle de la coloration. Il n'y a pas dissolution mais dissociation du complexe.

C) Etude de la réaction en milieu dioxanique

Nous remarquons au cours de ces essais systématiques, la grande solubilité du complexe (Pd-alpha-furildioxime) dans le DIOXANE (oxyde de diméthylène). En effet le complexe correspondant à 1000 µg de Pd est aisément soluble dans 10 ml de ce solvant.

L'intensité de la coloration jaune y est d'une grande stabilité ; elle semble pouvoir se prêter à un dosage colorimètrique précis.

C'est pourquoi nous entreprenons l'étude détaillée de la réaction en milieu dioxanique.

---

(51) ZIEGLER M. et GLEMSER O. - Z. anal. Chem. - 146, 29-32 (1955)

1- Etude de l'influence des différents facteurs nécessaires au dosage du palladium réduit.

a) L'eau régale : sa présence est nécessaire à la rapide dissolution du palladium réduit et à sa transformation en chlorure palladeux.

Nous remarquons que, non seulement une certaine acidité n'est pas néfaste au développement de la coloration, mais qu'elle est nécessaire à la bonne solubilisation du complexe.

Menis et Rains travaillaient en présence d'un ml d'acide chlorhydrique concentré.

Nous constatons qu'un ml de mélange d'acides chlorhydrique et nitrique concentrés (eau régale) est tout aussi valable.

Si l'addition d'acide chlorhydrique atténue légèrement l'intensité d'une coloration obtenue en milieu neutre, sa présence dans le milieu réactionnel est cependant indispensable pour obtenir une solubilité intéressante.

L'acide nitrique, quant à lui, n'influe ni sur la coloration, ni sur la solubilité ; la petite quantité nécessaire à la parfaite dissolution du palladium métal ou réduit peut être conservée sans inconvénient dans le milieu réactionnel.

Nous adoptons une eau régale de formule :

1 partie d'acide nitrique fûmant (d 1,33 soit 36° Baumé)
3 parties d'acide chlorhydrique concentré (d 1,19 soit 22 - 23° Bé)

Cette proportion nous est proposée par M. Chambon (6) ; elle permet à froid une dissolution rapide du palladium réduit. Nous remarquons au cours de nos essais, qu'il est nécessaire d'utiliser un acide chlorhydrique de degré constant (23° Baumé). En effet l'emploi d'un acide de densité inférieure augmente légèrement l'intensité de la coloration, mais diminue fortement la solubilité du complexe.
D'autre part, il est important après dissolution totale du palladium, et avant l'addition du réactif chromogène, de diluer l'acidité du milieu par une petite quantité d'eau distillée. Dans ces conditions, un témoin sans palladium est totalement incolore.

La proportion de 2 ml d'eau distillée pour 0,5 ml d'eau régale nous semble la plus judicieuse.

b) L'alpha-furildioxime : Menis et Rains utilisèrent une solution hydro-alcoolique obtenue par dissolution de 1 g d'alpha-furildioxime dans 30 ml d'alcool absolu suivie d'une dilution à 100 ml par de l'eau distillée.

Les essais que nous avons effectués avec 1 ml de cette solution à 1 % ont été très satisfaisants. Cependant nous constatons qu'un excès important de réactif par rapport au palladium à doser, est nécessaire pour l'obtention rapide et complète du complexe coloré.

Aussi, pour élargir le champ d'application de cette réaction à de plus fortes quantités de palladium, adoptons-nous une solution à 2 % d'alpha-furildioxime. La portion rectiligne de la courbe d'étalonnage se trouve prolongée de 280 à 350 µg de palladium dans la prise d'essai, par l'emploi de cette solution plus concentrée.

Nous observons que cette solution à 2 % d'alpha-furildioxime se conserve mal dans l'alcool à 30° (en peu de temps, une fraction du réactif recristallise au fond du flacon). Aussi préparons-nous une solution à 2 % dans l'alcool éthylique à 60°. (dissolution du réactif dans 60 ml d'alcool absolu, puis dilution à 100 ml par de l'eau distillée et filtration).

Cette solution nous donne toute satisfaction. C'est cette formule que finalement nous adoptons.

c) le dioxane : c'est le solvant, miscible à l'eau, du complexe (Pd-alpha-furildioxime) le plus intéressant ; nous l'avons retenu pour notre technique de micro-dosage.

Le dioxane commercial peut être impur et, en particulier contenir des peroxydes. Redoutant les pertubations qu'ils auraient pu causer, ainsi que les autres impuretés que peut renfermer le dioxane technique, nous avons conduit parallèlement des essais avec du dioxane chimiquement pur "Prolabo" et un dioxane technique renfermant des peroxydes.

Nous obtenons des résultats totalement identiques, tant au point de vue maximum d'absorption qu'au point de vue courbe d'étalonnage.

Donc, en pratique, le dioxane technique peut suffire.

Nous avons cherché quelle était la proportion optima de dioxane nécessaire dans le milieu réactionnel.
Au point de vue solubilité : le complexe (Pd-alpha-furildioxime) est d'une grande solubilité dans le dioxane pur. Cette solubilité décroît dans un mélange eau-dioxane, proportionnellement au pourcentage d'eau.

- Ainsi, dans 10 ml d'un mélange eau-dioxane à 75 % de dioxane, le complexe correspondant à plus de 1800 µg de palladium est parfaitement soluble.

- Dans 10 ml du mélange à 65 % de dioxane, la solubilité dépasse 1000 µg de palladium complexé.

- Mais dans 10 ml du mélange à 60 % de dioxane, la solubilité devient inférieure à 300 µg de palladium complexé.

Il résulte qu'un pourcentage de 65 % de dioxane est au moins nécessaire dans le milieu réactionnel pour obtenir une solubilisation rapide et complète d'un complexe (Pd-alpha-furildioxime) correspondant à des quantités de l'ordre de 1000 µg de palladium réduit.

Au point de vue sensibilité de la réaction colorée : l'addition du dioxane au milieu réactionnel semble atténuer légèrement l'intensité de la coloration jaune. En effet, la maximum de la courbe d'absorption du complexe, situé à 420 mµ en milieu hydro-alcoolique, se trouve progressivement déplacé vers le proche ultra-violet à mesure que la proportion en dioxane du milieu réactionnel augmente. Un maximum d'absorption situé trop profondemment dans l'ultra-violet ne permet pas une colorimètrie suffisamment sensible si l'on ne dispose que d'un électrophotomètre classique. Pour limiter ce déplacement, nous avons intérêt à opérer en présence du pourcentage minimum de dioxane permettant une bonne solubilisation du complexe. Ce pourcentage minimum est, comme nous l'avons vu, de 65 % du milieu réactionnel. De tels pourcentages d'eau et de dioxane sont facilement miscibles par simple retournement.

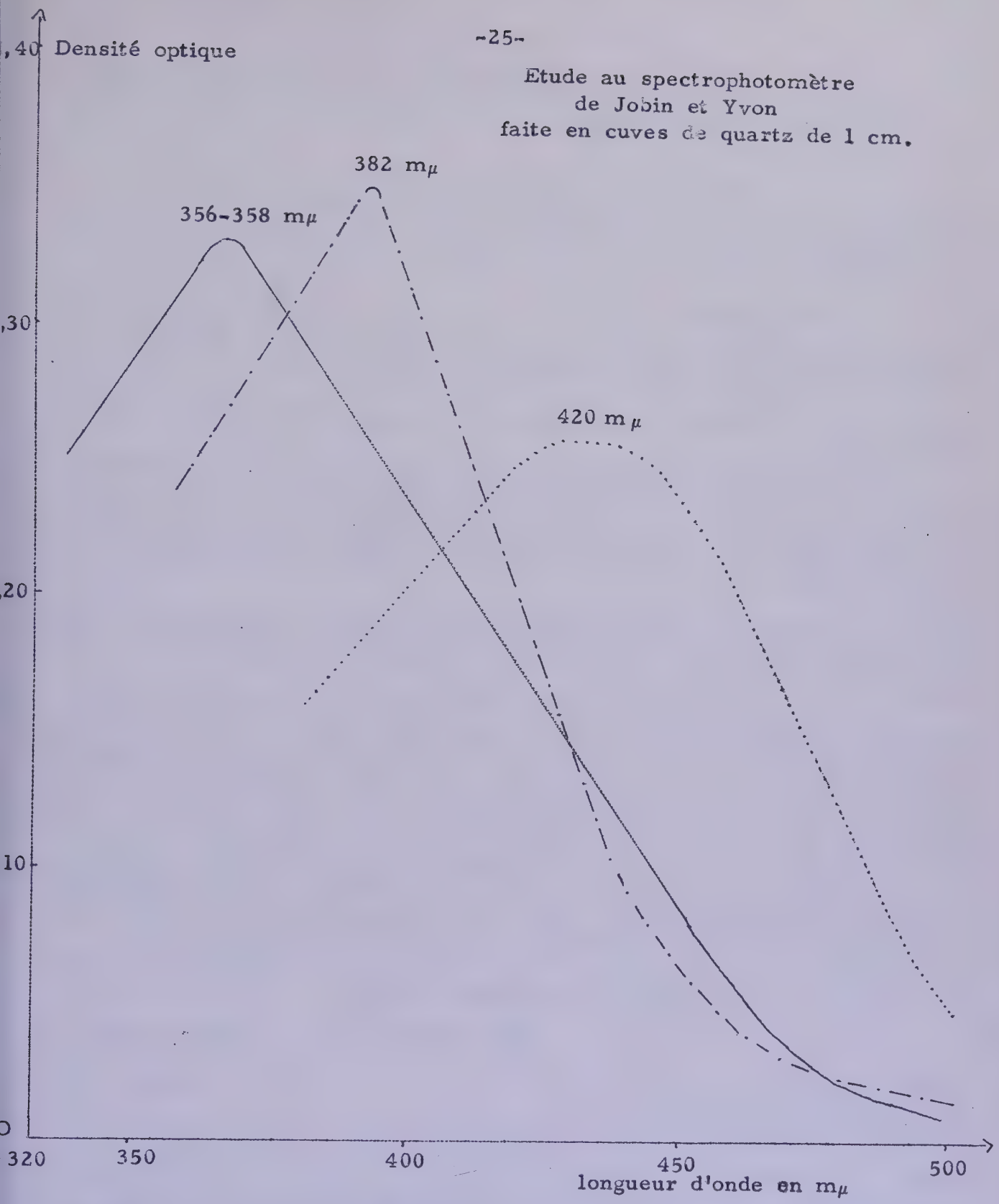
2- Recherche du maximum d'absorption en milieu dioxanique

Nous avons procédé à cette recherche au spectrophotomètre de Jobin et Yvon, dans des cuves de quartz de 1 cm d'épaisseur.

Nous avons travaillé sur 50 µg de palladium-métal dissous dans 0,50 ml d'eau régale définie au paragraphe a). Après dissolution, nous diluons avec 2 ml d'eau distillée. Nous ajoutons 1 ml de la solution d'alpha-furildioxime définie à b). Nous complètons à 10 ml avec du dioxane.

Cette solution colorée, qui contient 65 % de dioxane, possède une courbe d'absorption à un sommet dont le maximum est situé à 356-358 mµ . (cf. courbe II)

Les lectures ont été faites par rapport à un témoin blanc-réactif conduit concurremment dans les mêmes conditions.



COURBE II - Courbes d'absorption du complexe "Pd-alpha-furildioxime" correspondant à 50 μg de palladium-métal :

———— en milieu dioxanique à 65 %

-.-.-.-.-.- en milieu chloroformique

..... en milieu hydro-alcoolique

D) Adoption d'une technique de micro-dosage colorimètrique du palladium réduit.

Nous dissolvons, dans un ballon jaugé à 10 ml, le palladium réduit à doser par 0,50 ml d'eau régale préparée extemporanément. Dès dissolution totale, que nous activons par agitation, nous diluons par 2 ml d'eau distillée.

Nous ajoutons 1 ml de la solution à 2 % d'alpha-furildioxime. Une intense coloration jaune se développe aussitôt. Pour de plus fortes quantités de palladium, un précipité jaune-orange ne tarde pas à se former.

A ce moment, nous amenons à 10 ml par addition de 6,5 ml de dioxane pur.

Nous agitons par renversement une ou deux fois. Le précipité, s'il s'en est formé un, se dissout pratiquement instantanément. Une belle coloration jaune apparaît dans un milieu parfaitement limpide. Nous laissons cette coloration se développer pendant un quart d'heure dans le ballon ou dans un tube à essai bouché.

Un témoin sans palladium doit être mené parallèlement. Il doit être limpide et incolore ; il donnera l'absorption de base.

Il est préférable de diluer l'eau régale du témoin et du tube-réaction en même temps. En effet, l'eau régale, que nous préparons extemporanément, peut se teinter d'elle-même légèrement (formation de chlorure de nitrosyle) durant les quelques minutes qui peuvent être nécessaires à la dissolution d'une quantité de palladium un peu forte. Cette coloration disparaîtra dans le témoin lors de l'addition des 2 ml d'eau distillée ; mais nous avons remarqué que l'absorption de base se trouvait légèrement augmentée si ce laps de temps était trop important. Aussi doit-il être le même pour le témoin et le tube-réaction. Il est d'ailleurs préférable de le réduire au maximum en activant la dissolution du palladium par agitation.

En résumé, nous proposons la technique suivante :

	Tube témoin	Tube-réaction
Palladium réduit :	0	x µg
Eau régale extemporanée :		
NO_3H 1 vol. / HCl 3 vol.	0,50 ml	0,50 ml
Eau distillée	2 ml	2 ml
Solution à 2 % d'alpha-furildioxime	1 ml	1 ml
Dioxane (pur ou technique)	QS pour 10 ml, soit 6,5 ml	

Après agitation et repos d'un quart d'heure (ou plus si nous de désirons), nous évaluons l'intensité de la coloration soit au spectrophotomètre à 357 $m\mu$, soit à défaut à l'électrophotomètre de Meunier, écran 43 (violet).

Le taux de palladium de la prise d'essai nous sera donné en microgrammes par simple lecture de la courbe d'étalonnage de l'appareil utilisé, après soustraction de l'absorption de base fournie par le témoin sans palladium.

E) Etalonnage du dosage colorimètrique du palladium en milieu dioxanique.

a) Préparation de la solution titrée de chlorure palladeux

Nous utilisons une solution titrée de chlorure palladeux légèrement chlorhydrique obtenue par dissolution à froid de 100 milligrammes de palladium métallique pur dans un minimum d'eau régale (1 à 2 ml doivent suffire).
Après dissolution totale, nous éliminons l'excès d'eau régale par chauffage progressif au bain de sable jusqu'à siccité. Nous reprenons une ou deux fois le résidu brun-rouge de chlorure de palladium par quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et nous évaporons à sec.
Ce résidu, une dernière fois dissous dans quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré, est dilué, après passage dans un ballon jaugé et rinçage, à 100 ml par de l'eau distillée.

Nous obtenons ainsi la solution-mère titrée à 1000 μg de palladium-métal par ml. Nous conseillons la vérification de son titre par volumètrie (méthode cyano-argentimètrique).

Pour notre étalonnage, nous utilisons une solution-fille titrée à 200 μg de palladium par ml, obtenue par simple dilution au cinquième de la solution-mère.

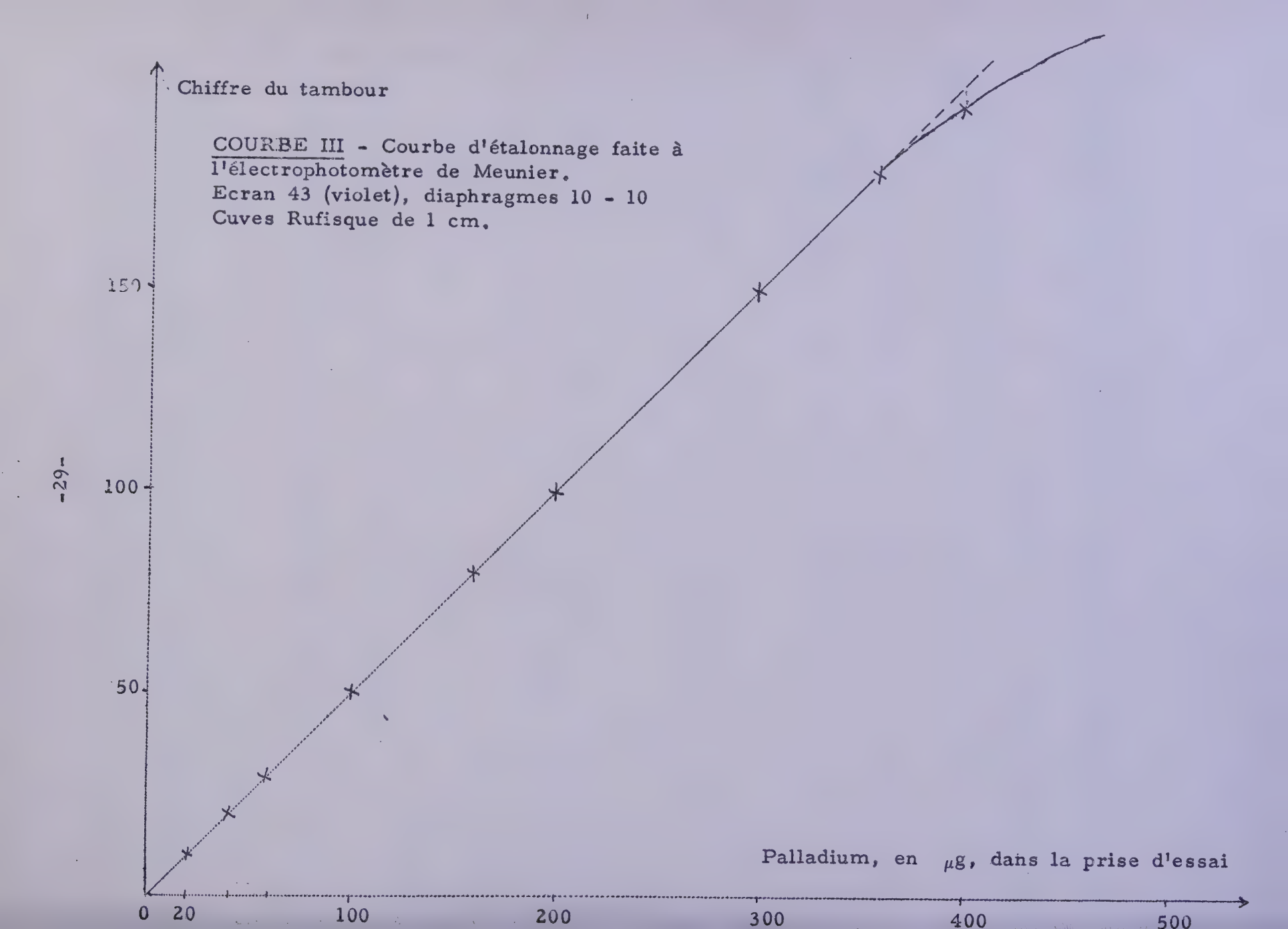
b) Préparation de la gamme d'étalonnage.

Chaque tube de la gamme est obtenu dans les conditions précitées (cf. paragr. 3) suivant le tableau :

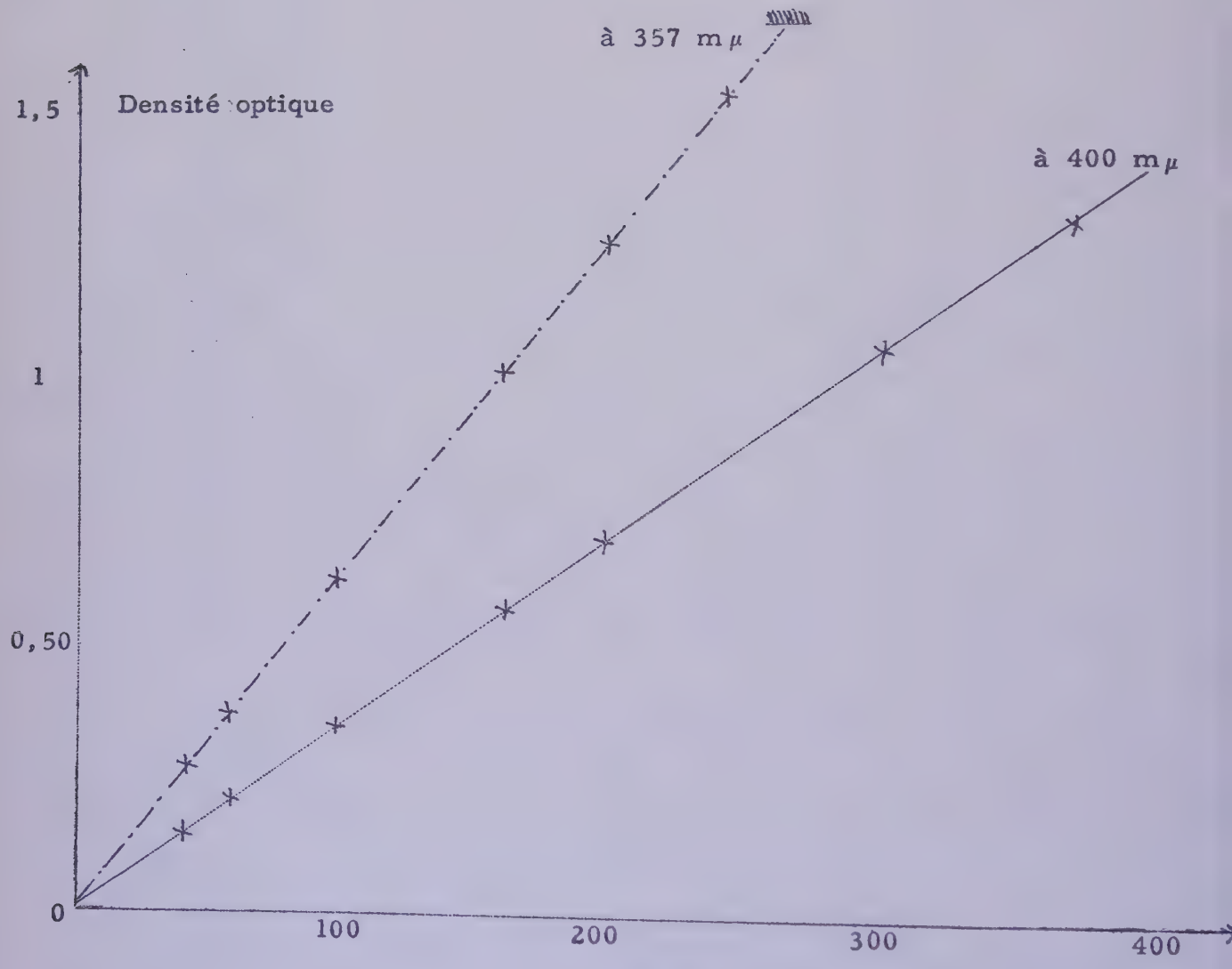
N° du tube	T	1	2	3	4	5	6	7	8	9
µg de palladium métal dans la prise d'essai	0	20	40	60	100	160	200	300	360	400
soit en ml de la sol. titrée à 200 µg de palladium/ml...	0	0,10	0,20	0,30	0,50	0,80	1	1,50	1,80	2
eau régale	0,50 ml dans chaque tube									
eau distillée	2	1,90	1,80	1,70	1,50	1,20	1	0,50	0,20	0
solution à 2 % d'α-furildioxime	1 ml dans chaque tube									
dioxane pur ou technique ...	Q.S. p/10 ml, soit 6,5 ml dans chaque tube									
lecture au Spectrophotomètre à 357 mµ : % de transmission	100	72,5	54	41,5	22,5	9	5,2	1,3	0,8	
lecture au Spectrophotomètre à 357 mµ : densité optique	0	0,14	0,27	0,38	0,65	1,05	1,28	1,91	2,22	
lecture au photomètre de Meunier - Ecran 43, cuve Rufisque 1 cm	20 / 0	30 / 10	40 / 20	50 / 30	69 / 49	98 / 78	118 / 98	165 / 145	193 / 173	206 / 186

La gamme ainsi obtenue peut être photométrée dès le premier quart d'heure après l'addition du réactif chromogène. Toutefois, pour les plus fortes concentrations en palladium, il est préférable d'attendre une demi-heure.

c) Résultats : nous obtenons une droite passant par l'origine, la coloration obéissant parfaitement à la loi de Beer-Lambert jusqu'à 360 µg de palladium. Au-delà, la courbe s'infléchit progressivement (cf. courbe III).


Chiffre du tambour
COURBE III - Courbe d'étalonnage faite à l'électrophotomètre de Meunier.
Ecran 43 (violet), diaphragmes 10 - 10
Cuves Rufisque de 1 cm.
150
100
50
0
20
100
200
300
400
500
Palladium, en µg, dans la prise d'essai

Au spectrophotomètre de Jobin et Yvon, nous obtenons en procédant aux lectures à 357 mμ, en cuves de quartz, une courbe rectiligne limitée vers 380 μg de palladium dans la prise d'essai. Au delà, l'intensité de la coloration dépasse les possibilités de sensibilité de l'appareil. (cf. courbe IV)



COURBE IV - Courbes d'étalonnage, en milieu dioxanique à 65 %, faites au spectrophotomètre de Jobin et Yvon, à 357 mμ et à 400 mμ. Cuves de quartz de 1 cm d'épaisseur.

Malgré les résultats très satisfaisants obtenus, l'emploi de ces deux photocolorimètres présentent quelques inconvénients.

- L'électrophotomètre de Meunier ne possède pas de filtre permettant de s'approcher du maximum d'absorption soit 357 mμ . A 430 mμ , (filtre violet du Meunier) la sensibilité de la réaction se trouve légèrement diminuée.

- Le spectrophotomètre de Jobin et Yvon, dont l'emploi représente théoriquement la solution idéale, est un appareil de diffusion limitée.

Un appareil simple et précis, appelé à une grande vulgarisation, nous a par contre entièrement séduit.

C'est le spectrophotomètre "Spectral - Junior - Jouan"

Cet appareil permet le choix avec grande précision d'une longueur d'onde située entre 350 et 700 mμ .
Il donne une lecture directe en densité optique et en pourcentage de transmission.

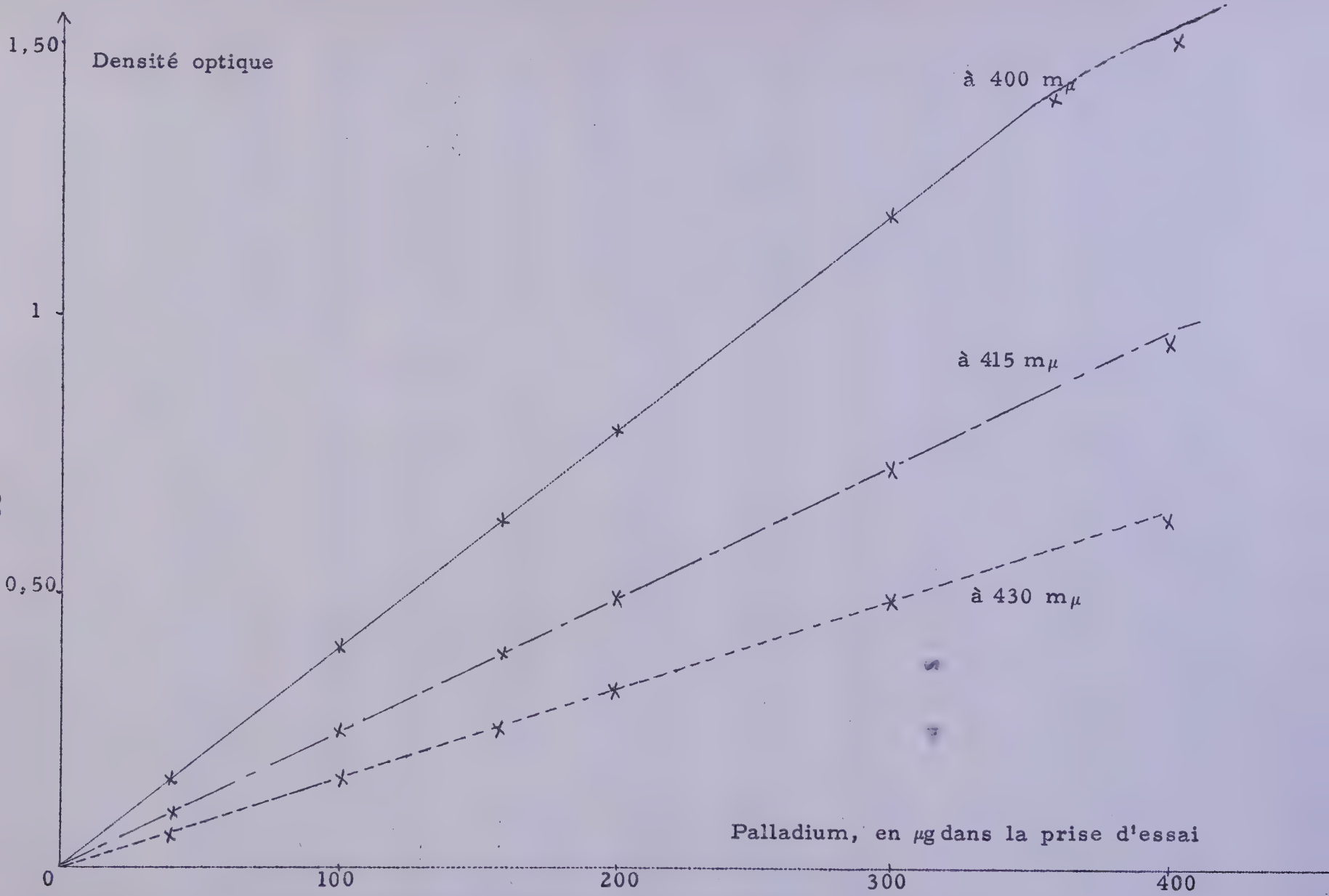
Des essais d'étalonnage, avec cet appareil, nous ont montré qu'à 360 mμ , l'intensité de la coloration dépassait trop rapidement ses capacités. De plus l'emploi d'une telle longueur d'onde exige l'utilisation de cuves de quartz.

Par contre à 400 mμ , longueur d'onde permettant l'utilisation de cuves de verre, les résultats sont des plus satisfaisants et la sensibilité largement suffisante.
(supérieure à 2 μg de palladium par ml du milieu réactionnel).

En choisissant des longueurs d'onde supérieures , nous avons bien sûr, une diminution progressive de la sensibilité. (cf. courbe V).

Voici le tableau d'étalonnage utilisé, et les résultats obtenus par lecture au Spectral-Junior.

N° du tube	T	1	2	3	4	5	6
Palladium métal en µg dans la prise d'essai	0	40	100	160	200	300	400
Soit en ml de la solution de chlorure palladuex à 200 µg/ml	0	0,20	0,50	0,80	1	1,50	2
Eau régale (NO3H 1 vol. (ClH 3 vol.	0,50	ml	dans	chaque	tube		
Eau distillée (Q.S. p/2,5 ml.)	2	1,80	1,50	1,20	1	0,50	0
Solution à 2 % d'α- furildioxime	1	ml	dans	chaque	tube		
Dioxane	Q.	S.	pour	10	ml		
Densité optique à (400 mµ	0	0,16	0,41	0,64	0,81	1,20	1,45
Densité optique à (415 mµ	0	0,11	0,27	0,40	0,50	0,72	0,86
Densité optique à (430 mµ	0	0,06	0,16	0,25	0,33	0,50	0,63



COURBE V - Courbes d'étalonnage faites au spectrophotomètre "spectral-junior" Jouan. Etude en cuves de verre de 1 cm d'épaisseur.

F) Critique du dosage colorimètrique du palladium par l'alpha-furildioxime.

Stabilité de la réaction colorée.

La coloration ainsi obtenue est d'une grande stabilité. En effet, l'intensité maxima, obtenue dès le premier quart d'heure pour les plus faibles concentrations, et en une demi-heure pour les plus fortes, se maintient constante au-delà de 48 heures après addition du réactif chromogène.

Des lectures renouvelées d'une même gamme faite à différents intervalles durant ce délai nous ont toujours donné des résultats identiques.

Une courbe se reproduit fidèlement si l'on procède à la vérification de l'étalonnage d'un appareil de mesure avec une autre gamme obtenue dans les mêmes conditions.

Dans les conditions opératoires précisées ci-dessus, un photomètre se trouve donc étalonné une fois pour toutes.

Sensibilité du dosage.

La réaction colorée employée est d'une grande sensibilité, et elle le sera d'autant plus si on l'évalue à une longueur d'onde proche du maximum d'absorption.

Ainsi, à 400 mμ , une prise d'essai de 20 μg de palladium métal, soit 2 μg de palladium par ml du milieu réactionnel, sera évaluée avec une précision supérieure à 1 %.

Cette sensibilité est bien celle d'une micro-colorimètrie.

Dosage d'une quantité de palladium supérieure à 350 μg

Nous avons vu qu'au-delà de cette quantité, la loi de Beer n'était plus exactement vérifiée.

Il suffit donc, par dilution appropriée du milieu réactionnel ou par la prise d'une partie aliquote du palladium dissous dans l'eau régale de se ramener dans la portion rectiligne de la courbe. Cette portion correspond à des quantités allant de 1 à 35 μ_g de palladium par ml du milieu réactionnel final. On pourra, par exemple, dissoudre le palladium à doser dans une partie aliquote d'eau régale définie ci-dessus de façon à ce que 0,50 ml de cette solution acide renferme de 10 à 350 μ_g de palladium.

Pour des quantités de palladium estimées à 300 - 600 µg, il sera plus aisé de diluer dans les mêmes conditions le milieu réactionnel à Q.S. pour 20 ml, dans les proportions indiquées, par exemple à l'aide des 10 ml du témoin sans palladium.

Le chiffre ainsi obtenu, diminué de la valeur trouvée pour le témoin (absorption de base) donnera sur la courbe d'étalonnage une valeur en µg de palladium qu'il nous suffira de multiplier par la dilution.

EN RESUME :

Nous avons présenté une micro-méthode de dosage colorimètrique du palladium métallique ou réduit.

Cette technique, de manipulation simple et rapide, nous donnera des résultats précis dans la mesure où nous respecterons les proportions et la composition des différents facteurs de la réaction.

La stabilité de la coloration et de l'étalonnage se prête parfaitement aux dosages en série.

Les applications de cette méthode nous semblent multiples ; par exemple le dosage de traces de palladium dans ses alliages, la plupart des autres cations ayant un effet nul ou négligeable sur l'alpha-furildioxime.

Il sera de même possible de procéder au dosage indirect de tous les corps ayant une action réductrice quantitative sur le chlorure palladeux. Le dosage du palladium réduit isolé, nous permettra d'évaluer la valeur de l'agent réducteur.

C'est ainsi que nous nous sommes attachés plus particulièrement à son application au dosage de l'oxyde de carbone sanguin.

CHAPITRE IV

Mise au point d'une méthode pondérale de dosage du palladium par l'alpha-furildioxime.

Principe - Le complexe (Pd-alpha-furildioxime) est pratiquement insoluble en milieu aqueux faiblement acide.

Le palladium, amené à l'état soluble le cas échéant par dissolution dans l'eau régale, est précipité quantativement en présence d'un excès de réactif.

Ce précipité peut être recueilli sur un filtre de porcelaine taré, puis séché à l'étuve à 100° et pesé.

Equation -

$$\underset{106,7}{Pd^{++}} \xrightarrow{\alpha\text{-furildioxime}} \underset{106,7 + (219,1)\,2}{Pd\,(C_{10}H_7O_4N_2)_2} \qquad (29)$$

$$\frac{Pd^{++}}{\text{précipité}} = \frac{106,7}{544,9} = 0,1958$$

$$Pd = p \times 0,1958$$

avec Pd = poids du palladium métal en mg.

p = poids du précipité en mg.

Technique proposée

Le palladium est amené à l'état chlorure de palladium par dissolution dans un minimum d'eau régale. Après dissolution, nous diluons le milieu réactionnel avec 100 ml d'eau chlorhydrique à environ 0,2 N.

Nous ajoutons un léger excès de solution d'alpha-furildioxime à 2 %, définie chapitre III, C, et nous portons à ébullition. Il faut 1 ml de la solution-réactif pour environ 1,5 mg de palladium.

Nous maintenons l'ébullition 5 à 10 minutes.

Après refroidissement, nous filtrons à l'aide du vide, sur un filtre de porcelaine séché et taré.

Nous vérifions l'absence de palladium dans l'eau de filtration qui doit être incolore : l'addition d'alpha-furildioxime ne doit donner ni trouble ni coloration jaune. Le cas échéant, nous additionnons 1 ml de réactif au filtrat que nous portons à ébullition. Le nouveau précipité ainsi obtenu sera ajouté au précédent.

Nous lavons le récipient (en s'aidant d'un agitateur caoutchouté) et le précipité par de l'eau chaude légèrement chlorhydrique (100 ml). Le filtre de porcelaine est enfin porté à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant (soit pendant 1 h. à 1H1/2).

Le poids P du filtre — tare = p

Essais

Quantité théorique de Pd en mg	p trouvé en mg	Pd trouvé en mg	erreur en %	Pd trouvé avec coefficient
1,000	5,0	0,979	- 2,10	1,004
2,000	10,0	1,958	- 2,10	2,009
3,000	14,8	2,898	- 3,40	2,973
5,000	24,8	4,856	- 2,88	4,982

Discussion

Le faible pourcentage d'erreur par défaut constamment constaté, semble devoir s'expliquer par une très faible solubilité du complexe (Pd - alpha-furildioxime) dans le volume relativement important des eaux de précipitation et de lavage.

L'emploi d'un coefficient de correction minime compensera cette perte par solubilité, si nous prennons soin de respecter les volumes d'eaux de précipitation et de lavage indiqués (100 ml + 100 ml)

Nous avons choisi, expérimentalement, un coefficient de correction de : 1,026

Le poids de palladium-métal compris dans la prise d'essai sera donné finalement par la formule :

$$Pd = p \times 0{,}1958 \times 1{,}026$$

soit : $Pd = p \times 0{,}2009$

DEUXIEME PARTIE

APPLICATION A LA DETERMINATION PALLADOMETRIQUE DE L'OXYCARBONEMIE

PREAMBULE

Devant l'importance et la fréquence sans cesse croissantes de l'intoxication oxycarbonée dues à l'augmentation du nombre des causes de cette intoxication, il nous a paru opportun d'obtenir une méthode de dosage de l'oxycarbonémie d'utilisation pratique et aisée, répondant aux exigences médicales et médico-légales actuelles ; en un mot une méthode de "routine".

- Une méthode d'utilisation pratique : c'est-à-dire une méthode n'utilisant qu'un matériel courant et peu onéreux, n'exigeant aucune compétence ou spécialisation particulières.

- Une méthode répondant aux exigences médicales : c'est-à-dire une méthode rapide et sûre permettant d'obtenir le résultat définitif en deux à trois heures, de façon à renseigner le médecin qui se trouve en expectative devant un coma dont l'origine oxycarbonée demande à être vérifiée avant de mettre en route le traitement approprié . De plus, une telle méthode ne devra nécessiter que de faibles quantités de sang, condition essentielle en pédiatrie.

- Une méthode répondant aux exigences médico-légales : c'est-à-dire une méthode d'une sensibilité et d'une fidélité suffisantes pour déceler les faibles oxycarbonémies des intoxications si courantes dans nos villes, et également d'une souplesse apte à lui permettre d'évaluer les forts pourcentages d'oxyde de carbone constatés dans les intoxications aigues.

Si la plupart des méthodes jusqu'alors publiées répondent parfaitement à l'une ou l'autre de ces conditions, bien peu par contre présentent tous ces avantages réunis. Bien plus, il est généralement constaté que l'une de ces qualités va à l'encontre d'une autre, par exemple rapidité et exactitude, ou bien sensibilité et quantité de sang exigée.

Sans la prétention d'avoir résolu parfaitement le problème ainsi posé, ce sont ces données qui nous ont servi de guide dans notre travail.

CHAPITRE I

Travaux antérieurs sur la détermination de l'oxycarbonémie.

Ce rappel nous a semblé indispensable puisque nous allons étudier l'application de la micro-méthode colorimètrique que nous avons mise au point à la détermination palladomètrique de l'oxycarbonémie.

Une succinte énumération nous permettra, de plus, de situer ces méthodes palladomètriques dans le cadre des solutions proposées pour évaluer l'oxycarbonémie.

Celles-ci peuvent être classées en :

- Méthodes physiques qui procèdent directement sur le sang incriminé dont elles apprécient le taux de carboxyhémoglobine.

- Méthodes chimiques qui exigent une extraction préalable des gaz du sang dont elles évaluent ensuite le taux en oxyde de carbone.

A) Les méthodes physiques -

Elles utilisent le spectre d'absorption caractéristique de la carboxyhémoglobine dont l'intensité des bandes peut être évaluée :

- au photomètre suivant la technique de Parnas et Sienawski (31) améliorée par Pieters et Hanssen (36).

- ou mieux au spectrophotomètre comme l'ont démontré Balthazard (3) puis Bonneau (7).

---

(31) PARNAS et SIENAWSKI - Biochem. Zeits - 1933 - 266, 102-106

(36) PIETERS et HANSSEN - Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 1948, 67, 782-794

(3) BALTHAZARD V. - Bull. Soc. Chim. Biol. - 1924 - 6, 817-827

(7) BONNEAU M. - Thèse en Pharmacie - Paris - 1951 -

Plus récemment, certains auteurs ont préconisé l'emploi des spectres infra-rouges. Il est possible en effet d'évaluer la transparence du sang aux infra-rouges qui est proportionnelle au taux de carboxyhémoglobine. (7)
Moureu préconise une méthode ayant l'avantage de ne pas évaluer la carboxyhémoglobine. Il mesure l'absorption des infra-rouges par l'oxyde de carbone après son isolement du sang. (25)

Citons enfin Wolff qui a décrit une technique basée sur la mesure de la résistance de la carboxyhémoglobine aux agents physiques. (48).

Critique des méthodes physiques

Ces méthodes d'évaluation de la carboxyhémoglobine sont généralement rapides puisque directes et elles n'exigent que des prises de sang minimes (quelques gouttes peuvent parfois suffire). Mais elles nécessitent un matériel spécialisé et surtout elles ne peuvent évaluer avec une rigueur suffisante les faibles oxycarbonémies.

De plus, ne dosant que la carboxyhémoglobine, elles ne paraissent pas utilisables pour le dépistage de l'oxycarbonisme chronique. Il a été en effet démontré que l'oxycarbonisme chronique se traduisait par la persistance dans le sang de proportions anormales d'oxyde de carbone, ce qui permet de penser que ce gaz ne s'y trouve pas sous la forme de carboxyhémoglobine, car cette combinaison est facilement dissociable selon une réaction d'équilibre obéissant à la loi d'action de masse, d'où la rapide disparition de l'oxyde de carbone en cas d'intoxication aigue, alors qu'il persiste des semaines ou mêmes des mois dans le cas chronique. On peut dans ce cas soupçonner la présence d'un composé X différent de la carboxyhémoglobine responsable de ce phénomène (7). Certains auteurs ont envisagé que ce composé X pourrait être un cytochrome, mais cette hypothèse, si elle est plausible, est encore difficile à démontrer.

---

(7) BONNEAU M. -Thèse en Pharmacie ; 1951, Paris

(25) MOUREU H., CHOVIN P., TRUFFERT L., LEBBE J. - Arch. Mal. Prof. ; 1957, 18, n° 2, 116-124

(48) WOLFF E. - Ann. Med. Leg. - 1947, 27, 221-222

B) Méthodes chimiques

Elles ont pour base l'action du pouvoir réducteur quantitatif de l'oxyde de carbone sur des réactifs appropriés : oxygène, anhydride iodique, sels de métaux lourds, ...
Elles exigent dans un premier temps, l'isolement de l'oxyde de carbone du sang à analyser. Cet isolement se fera, soit par extraction des gaz du sang dans le vide, soit par diffusion de l'oxyde de carbone après déplacement par un acide fort.

La méthode eudiomètrique de Nicloux, nécessitant une prise de sang importante (26), et les méthodes basées sur la réduction de l'anhydride iodique dans des conditions très particulières (6), n'ont actuellement qu'un intérêt pratique limité.

Plus intéressantes et plus nombreuses sont les méthodes palladomètriques qui utilisent la réaction de base de Winkler (47) :

$$PdCl_2 + CO + H_2O = 2\ ClH + CO_2 + \underline{Pd}$$

Le palladium est précipité quantativement de ses solutions par l'oxyde de carbone. Le palladium étant insoluble dans l'acide chlorhydrique en l'absence d'halogène libre, cette équation exprime la réaction totale et complète.

Ce palladium réduit, une fois isolé, peut être alors dosé par volumètrie, polarographie ou colorimètrie.

Seules, les méthodes colorimètriques retiendront notre attention. Cependant, parmi les méthodes volumètriques, nous pouvons citer les travaux de Wennesland (46), Sérusclat (44) et de M. Chambon (8).

---

(26) NICLOUX M. - Oxyde de carbone et intoxication oxycarbonique. Ed. Masson, Paris, 1925, 197-204

(6) BLAND D. - Austral. J. Exptl. Bio. Sci. ; 1940, 18, 35-47

(47) WINKLER L.W. - Z. Anal. Chem. ; 1934, 97, 18-27

(46) WENNESLAND R. - Acta phys. Scand. ; 1940-41, 1, 49-69

(44) SERUSCLAT F. - Thèse en Pharmacie - Lyon, 1949

(8) CHAMBON M. - Ann. Bio. Cl. ; 1950, 4, 520-522

Méthodes colorimètriques

Ce sont incontestablement celles qui permettent la réalisation la plus pratique des dosages du palladium réduit, surtout lorsqu'ils doivent être réalisés en série.

Un grand nombre de celles-ci sont basées sur l'évaluation de la coloration rose-rouge du pallado-iodure de potassium obtenu par action du chlorure palladeux sur un excès d'une solution d'iodure de potassium en milieu légèrement chlorhydrique.

Dans un premier temps, les auteurs utilisent l'action réductrice de l'oxyde de carbone déplacé du sang à doser par un acide fort, en enceinte close, sur un excès d'une solution de chlorure palladeux.

Il est alors possible dans un second temps de déterminer cet excès de chlorure palladeux, comme le proposent :

- Christmann et Randall (12), qui libèrent l'oxyde de carbone par l'acide ferricyanique. Le palladium réduit est floculé par du sulfate d'aluminium puis éliminé. L'excès de la solution titrée de chlorure palladeux est déterminé colorimètriquement après transformation en iodure palladeux.

- Thomas H. Allen et W.S. Rost (1), qui utilisent un appareillage inspiré par Wennesland (46) constitué par deux flacons d'erlen-meyer couplés et maintenus horizontaux. L'oxyde de carbone est déplacé par l'action d'une solution ferricyanure-saponine. Il agit sur un excès d'une solution titrée de chlorure palladeux. Cet excès est évalué à 490 mμ après transformation en iodure palladeux.

- P. Ramel et M. Laubie (39), qui utilisent pour l'extraction de l'oxyde de carbone l'appareil de Nicloux modifié par Chambon. Ils éliminent le palladium réduit par filtration sur verre frité. La colorimètrie est effectuée, sur l'excès de la solution de chlorure palladeux après transformation en pallado-iodure de potassium, soit au spectrophotomètre à 3.200 ou 4.100 Å, soit au photomètre de Meunier, écran 43.

---

(12) CHRISTMANN A.A., RANDALL E.L. - J. Biol. Chem. ; 1933, 102, 595-609

(1) ALLEN T.H. , ROST W.S. - J. Biol. Chem. ; 1955, 216, n° 1, 319-32

(39) RAMEL P., LAUBIE M. - Note présentée devant la société de Phcie LYON, 1956

Pour qu'une telle colorimètrie d'excès de réactif conduise à une précision suffisante dans le dosage de l'oxyde de carbone lui-même, elle doit présenter des qualités exceptionnelles : lorsque les quantités d'oxyde de carbone mises en oeuvre sont faibles par rapport à la quantité de réactif palladeux, la faible erreur obtenue sur le dosage de l'excès de réactif risque en effet d'entraîner une erreur relative inadmissible sur le dosage de l'oxyde de carbone proprement dit. (39)

La pratique semble avoir justifiée cette crainte, ce qui explique que ces méthodes "en retour" souffrent actuellement d'une certaine défaveur et sont pratiquement abandonnées.

Il est possible également de doser le palladium réduit lui-même, ce qui est d'ailleurs beaucoup plus rationnel, le palladium réduit étant d'après l'équation de Winkler directement proportionnel à l'oxyde de carbone déplacé du sang.

- Fabre, Truhaut et Berrod (14) utilisent le système préconisé par Wennesland pour le déplacement de l'oxyde de carbone. Ils montent les flacons erlen-meyer couplés sur un disque tournant pour améliorer la diffusion. Après une série d'opérations assez longues, le palladium réduit est isolé puis transformé en chlorure palladeux avec ensuite élimination de l'eau régale. Ce chlorure palladeux forme avec l'alpha-nitroso-béta-naphtol un complexe rouge soluble dans la pyridine. Ce complexe est évalué au photomètre de Pulfrich à l'écran bleu S/72.

- Le Moan (21) réalise une micro-diffusion dans une cellule genre Schloesing. L'oxyde de carbone est déplacé par l'acide sulfurique pendant 24 heures à l'obscurité à température ordinaire, ou pendant 6 heures à 37°. Le palladium réduit est isolé par filtration sur porcelaine, transformé en chlorure palladeux puis en iodure palladeux après élimination de l'eau régale en excès. L'intensité de la coloration rose-rouge est évaluée photomètriquement (écran vert).

---

(14) FABRE R., TRUHAUT R., BERROD F. ; Ann. Pharm. Fr. ; 1951, 9, 625-638

(21) LE MOAN G. - Ann. Pharm. Fr. ; 1952, 10, 269-276

Critiques des méthodes chimiques

Les méthodes chimiques reposent sur le pouvoir réducteur quantitatif de l'oxyde de carbone. Ce pouvoir n'est pas un attribut spécifique de ce gaz. La nécessité d'extraire dans un premier temps l'oxyde de carbone du sang explique la durée bien supérieure de leur manipulation. Mais c'est justement cette extraction qui rend à ces méthodes leur spécificité et leur sensibilité. L'isolement de l'oxyde de carbone élimine les autres réducteurs du sang pouvant s'interposer, sauf l'hydrogène sulfuré provenant éventuellement d'un sang putréfié. Les méthodes palladomètriques permettent d'évaluer les plus petites quantités d'oxyde de carbone ainsi isolé ; aussi sont-elles pratiquement actuellement les seules techniques parfaitement adaptées à la détermination des faibles oxycarbonémies (inférieures à 1 ml d'oxyde de carbone %), à partir de prises d'essai de l'ordre de 5 à 10 ml de sang. Ceci explique la faveur dont elles jouissent actuellement auprès de la plupart des laboratoires, puisqu'elles permettent d'apprécier l'intoxication chronique de l'homme de la rue, problème particulièrement à l'ordre du jour.

Nous voyons, d'autre part, que les méthodes palladomètriques procèdent en évaluant :

- soit l'excès de chlorure palladeux resté après action de l'oxyde de carbone. Cette technique indirecte semble peu rationnelle et se trouve liée à l'exactitude de la solution titrée de chlorure palladeux.

- soit le palladium réduit : le titre de la solution de chlorure de palladium n'a plus d'importance. Le problème réside alors dans la récupération totale du palladium réduit, et surtout dans sa transformation en chlorure palladeux soluble. Le palladium n'est rapidement soluble à froid que dans l'eau régale ou en présence de chlore naissant. Mais toutes les techniques classiques exigent, avant le dosage proprement dit, l'élimination totale et parfaite de cette eau régale. En effet, le dosage du chlorure palladeux par l'intermédiaire de l'iodure de potassium ne peut être envisagé en présence du réactif aussi oxydant que peut l'être l'acide nitrique concentré.

Cette élimination doit se faire à chaud jusqu'à siccité du milieu réactionnel, d'où risque de pertes par projection. Une évaporation imparfaite laisse des traces d'acide nitrique qui fausseront le dosage. Une évaporation trop poussée, par contre, peut décomposer le chlorure palladeu obtenu et redonner du palladium réduit, qui insoluble ne sera pas dosé ; dans ce cas il est nécessaire de reprendre la dissolution par l'eau régale et son élimination.

Aussi, pour éviter cette manipulation assez délicate, liée à une évaporation longue et fastidieuse, l'utilisation de l'alpha-furildioxime, réactif spécifique et quantitatif du palladium, même en présence d'eau régale, semble s'imposer.

CHAPITRE II

Etude de la réaction "oxyde de carbone - chlorure palladeux"

A - Etude théorique

Nous avons constaté que notre micro-méthode colorimètrique est parfaitement adaptée pour l'évaluation de quantités allant de 10 à 350 μg de palladium-métal dans la prise d'essai ; cette échelle de grandeur peut être étendue jusqu'à 700 μg par simple dilution au demi du milieu réactionnel.

Il est essentiel de savoir si cette échelle englobe les quantités de palladium que peut donner l'évaluation palladomètrique d'une oxycarbonémie humaine.

Equation utilisée

L'équation de base donnant la correspondance entre l'oxyde de carbone isolé du sang et le palladium réduit est, d'après Winkler (47) :

$$\underset{22,4 \text{ litres}}{CO} + Cl_2Pd + H_2O = CO_2 + 2\,ClH + \underset{106,7\,g}{Pd}$$

1 litre d'oxyde de carbone = $\frac{106,7}{22,4}$ = 4,76 g de Pd

1 ml " " " = 4,76 mg de Pd
0,01 " " " = 47,6 μg de Pd

Si p = poids de palladium précipité en μg
V = volume de sang utilisé en ml

L'oxyde de carbone en ml/litre de sang sera égal à :

$$\frac{0,01 \times p \times 1000}{47,6 \times V} = \frac{p}{4,76 \times V}$$

Quelles sont, d'autre part, les limites de la variation de l'oxycarbonémie chez l'homme ?

Nicloux et Balthazard (27) ont défini la "capacité respiratoire" qui est le volume maximum de gaz oxygène ou oxyde de carbone susceptible d'être fixé par l'hémoglobine d'un sujet.

---

(27) NICLOUX M. et BALTHAZARD V. - C.R. Acad. Sci. ; 1925, 152, 1787

Sa valeur, liée au taux d'hémoglobine, est d'environ 250 ml par litre de sang pour un sujet normal. Ce chiffre théorique n'est d'ailleurs jamais atteint, même dans les intoxications aigues les plus fortes. En effet, la mort survient dès que les 2/3 de l'hémoglobine sont transformés en carboxyhémoglobine, soit pour des oxycarbonémies proches de 170 ml par litre de sang. Des accidents très graves sont déjà observés pour des taux allant de 100 à 130 ml par litre de sang.

Nous voyons donc, d'après l'équation utilisée, que pour rester dans les limites de précision de notre micro-méthode, la valeur V de la prise de sang du dosage peut et doit être petite.

Pour mieux illustrer cette affirmation, prenons les cas extrêmes :

Dans la recherche d'intoxications chroniques ou légères, V pourra être voisin de 5 ml, mais généralement 2 ml, voire même 1 ml de sang suffiront.
Supposons, par exemple, une oxycarbonémie à 5 ml par litre de sang.
L'équation nous donne : $p = 5 \times 4,76 \times V = 23,8 \times V$

Même si V = 1 ml, p = 23,8 μg, quantité de palladium facile à évaluer par notre méthode.

Pour les fortes oxycarbonémies, V devra être voisin de 0,5 à 1 ml.
En effet, soit une oxycarbonémie à 150 ml par litre :

$$p = 150 \times 4,76 \times V = 714 \times V$$

Si V = 0,50 ml, p = 357 μg, valeur située dans la portion rectiligne de notre courbe d'étalonnage.
Si V = 1 ml, p = 714 μg, de palladium que nous déterminerons avec précision après avoir dilué le milieu réactionnel au demi.

Nous constatons ainsi qu'en utilisant des prises de sang voisines de 0,50 à 2 ml, nous couvrons largement le champ des variations possibles de l'oxycarbonémie humaine.

Pour choisir la prise d'essai V optima, nous pouvons nous baser soit sur le contexte clinique (détermination d'une intoxication aigue ou chronique, ...) soit sur un essai quantitatif rapide préalable.

La technique de détection rapide de la carboxyhémoglobine dans le sang mise au point par M. Chambon (9), en s'inspirant de la méthode de la Pharmacopée Internationale de recherche de l'oxyde de carbone dans l'oxygène, nous a donné toute satisfaction :

---

(9) CHAMBON M. - J. Med. Bordeaux ; 1957, 5, 649

2,5 ml du sang à doser sont additionnés de 0,04 g d'un mélange à parties égales de pyrogallol et de tannin, et agités à l'abri de l'air. Après un repos de 15 minutes à l'obscurité, la présence de carboxyhémoglobine se traduit par une coloration plus ou moins rose-brun contrastant avec la teinte grisâtre d'un sang témoin sans carboxyhémoglobine, traité dans les mêmes conditions.

Pour un observateur entraîné, la teinte prise par le mélange permet d'avoir la notion du volume nécessaire de la prise d'essai.

- Une recherche négative nous fera opter pour V compris entre 2 et 5 ml.

- Une recherche faiblement positive, nous fera prendre V voisin de 2 ml. M. Chambon a conclu à une détection déjà nette avec 6 ml d'oxyde de carbone par litre de sang.

- Une recherche nettement positive, nous fera préférer V voisin de 1 ml de sang.

En résumé :

L'application du micro-dosage colorimètrique du palladium étudié à l'évaluation de l'oxycarbonémie, nous laisse d'ores et déjà entrevoir deux avantages des plus intéressants :

1) Une faible prise de sang est suffisante. Nous constatons l'économie de sang ainsi réalisée par rapport à la plupart des autres méthodes classiques qui utilisent des prises d'essai de 10 ml et parfois plus. Quel avantage en pédiatrie ! Et même chez les adultes, combien est précieux le sang prélevé, surtout de nos jours où un grand nombre d'examens sanguins est souvent nécessaire pour asseoir un diagnostic. Une économie de quelques millilitres de sang est toujours souhaitable. De plus, nous pouvons espérer avoir ainsi plus souvent un excédent de sang, nous permettant de racheter une erreur de manipulation, ou de confirmer un résultat.

2) Possibilité, grâce à une faible variation de la prise de sang, d'évaluer les faibles intoxications chroniques comme les fortes intoxications aigues, les limites de notre dosage dépassant les variations courantes de l'oxycarbonémie humaine.

B) Vérification expérimentale du micro-dosage proposé quant à son application à la détermination de petites quantités d'oxyde de carbone.

Avant d'entreprendre des déterminations d'oxycarbonémie, il nous a paru nécessaire de vérifier l'exactitude de l'équation théorique et la valeur pratique de la technique que nous proposons.

Pour cela, nous utilisons un mélange gazeux d'oxyde de carbone dans de l'azote préparé extemporanément : l'oxyde de carbone est obtenu dans une burette de Bunte par action de l'acide sulfurique concentré sur de l'acide formique pur. L'excès d'acide sulfurique est ensuite éliminé et le gaz obtenu soigneusement lavé. Nous préparons ensuite dans une autre burette de Bunte un mélange exactement défini d'oxyde de carbone ainsi obtenu et d'azote.

Des quantités aliquotes de ce mélange sont prélevées avec grande précision, grâce à la technique mise au point par M. Chambon, et placées en contact avec 2 ml d'une solution chlorhydrique de chlorure palladeux à 4 %, dans des ampoules à décantation de faible capacité où nous faisons préalablement le vide. Ce contact est maintenu environ deux heures à l'obscurité.

Le palladium réduit formé est recueilli par filtration sur creuset filtrant de petit format. Après lavage, il est dosé directement après dissolution dans l'eau régale suivant la technique exposée ci-dessus (page 26).

Essais

Le mélange gazeux est à 2,5 % d'oxyde de carbone dans l'azote.

Prise d'essai de mélange en ml (corrigée)		Densité optique à 400 m_μ	Palladium trouvé en μg	Oxyde de carbone dans la prise d'essai, en ml	
				trouvé	théorique
1) 0,25	0,22	0,185	50	0,0105	0,0055
2) 1,51	1,32	0,560	152	0,0319	0,0330
3) 2,38	2,09	0,840	228	0,0479	0,0522

Au cours de cette série d'essais, nous avons utilisé des creusets filtrants dont la porosité trop élevée s'est révélée source d'ennuis, ce qui peut expliquer le résultat nettement abhérant de l'essai n° 1.

Aussi nous reprenons ces essais en utilisant des creusets filtrants de porosité inférieure (porosité 3).

Le mélange gazeux utilisé est à 3,01 % d'oxyde de carbone.

Prise d'essai de mélange en ml (corrigée)	Densité optique à 400 mμ	Palladium trouvé en μg	Oxyde de carbone dans la prise d'essai, en ml	
			trouvé	théorique
1) 0,25	0,22	0,115	31	0,0065	0,0066
2) 0,74	0,65	0,343	94	0,0197	0,0195
3) 1,49	1,31	0,662	180	0,0382	0,0393
4) 2,41	2,12	1,090	295	0,0620	0,0636

Ces derniers résultats, ne différant pas de plus de 3 % du chiffre théorique, semblent confirmer la valeur du dosage de faibles quantités d'oxyde de carbone par la technique colorimètrique proposée.

Nous pouvons entreprendre maintenant l'étude de son application pratique à la détermination de l'oxycarbonémie.

CHAPITRE III

Choix d'une technique d'extraction de l'oxyde de carbone du sang

Comme nous l'avons souligné, toute méthode chimique évaluant l'oxycarbonémie, nécessite, dans un premier temps, l'extraction et l'isolement de l'oxyde de carbone.

La micro-méthode colorimètrique de dosage du palladium que nous avons étudiée, peut théoriquement s'adapter à la plupart des méthodes palladomètriques dont les techniques d'extraction se classent en :

- Procédé d'extraction à chaud et dans le vide, dans un appareil de type Nicloux adapté aux micro-dosages par M. Chambon (8)

- Procédé de diffusion à froid en micro-enceinte, comme l'ont préconisé Christmann-Randall (12), Wennesland (46), Le Moan (21)....

Afin de nous permettre le choix d'une technique d'extraction, nous avons entrepris l'étude comparative des résultats obtenus simultanément,

- d'une part, par la technique à chaud proposée par M. Chambon,
- d'autre part, par la micro-diffusion à froid proposée par Le Moan,

techniques auxquelles nous avons appliqué la micro-méthode colorimètrique étudiée.

Nous avons pour cela utilisé des sangs dont les titres en oxyde de carbone furent établis par la méthode eudiomètrique de M. Nicloux (26), considérée comme méthode de référence.

Nous avons utilisé des sangs de boeufs défibrinés que nous avons au préalable saturés par barbottage d'oxyde de carbone pur pendant une heure au moins.

Nous avons procédé alors à des dilutions croissantes du sang saturé par du sang neuf vérifié exempt d'oxyde de carbone.

Nous avons ainsi obtenu des gammes de sang titrées en oxyde de carbone à taux décroissants.

Nous avons entrepris immédiatement les dosages en double des gammes ainsi préparées, en utilisant les deux techniques d'extraction retenues, les dosages étant terminés par la micro-colorimètrie proposée.

Chiffre théorique en CO (Nicloux)	Extraction à chaud				Diffusion à froid			
	Prise de sang	µg Pd trouvé	CO ml/l	% erreur	Prise de sang	µg Pd trouvé	CO ml/l	% erreur
56 ml/l	1 ml	250	52,5	- 6,2	2 ml	433	45,5	- 18,7
45 ml/l	1 ml	202	42,4	- 5,8	2 ml	366	38,5	- 14,4
14 ml/l	2 ml	129	13,5	- 3,5	2 ml	105	11,5	- 17,8
60 ml/l	1 ml	290	60,7	+ 1,1	1 ml	244	51,2	- 14,7
30 ml/l	2 ml	304	31,9	+ 6,3	2 ml	241	25,3	- 15,7
42 ml/l	1 ml	194	40,8	- 2,8	2 ml	329	34,6	- 17,6

Résultats -

1) Identité presque parfaite des résultats obtenus par la méthode eudiomètrique d'une part, et par l'application de la micro-colorimètrie proposée à une technique utilisant l'extraction à chaud des gaz du sang d'autre part. Le faible pourcentage d'erreur constaté, en plus ou en moins, semble inhérent aux techniques utilisées plus qu'à la micro-colorimètrie elle-même.

2) Résultats constamment en défaut par rapport aux deux autres fournis par la technique de diffusion à froid.

Afin de vérifier s'il fallait incriminer la diffusion à froid ou l'adaptation de la micro-colorimètrie proposée à ce procédé, dans l'explication de ces résultats en défaut, nous avons effectué des dosages simultanément en double en utilisant la même technique de diffusion à froid.

Un exemplaire est finalement dosé par la méthode à l'iodure de potassium préconisée par Le Moan (21).

L'autre est terminé par notre micro-colorimètrie à l'alpha-furildioxime.

Résultats obtenus (en ml d'oxyde de carbone par litre de sang) :

N° du sang	dosage Le Moan	dosage par l'α-furildioxime	différence en %
1	18,60	20,10	+ 7,4
2	13,09	13,30	+ 1,6
3	6,72	7,09	+ 5,5
4	14,10	13,70	- 2,8
5	7,10	6,93	- 2,4
6	11,55	11,70	+ 1,5
7	10,92	10,30	- 6

Ces pourcentages d'erreur étant dans les limites logiques de ce que l'on peut attendre en effectuant un même dosage par deux méthodes colorimètriques différentes, nous concluons à un défaut d'extraction de l'oxyde de carbone lors de la diffusion à froid. Une agitation permanente durant cette diffusion devrait améliorer ces résultats.

Il est possible également de relier cette insuffisance à la présence, dans la cellule type Schloesing qu'utilise Le Moan, d'une trop grande quantité d'oxygène par rapport à l'oxyde de carbone à doser ; aucun vide préalable n'étant effectué avant la diffusion.

Ces résultats nous ont conduit à préférer l'extraction à chaud et dans le vide à la technique de diffusion à froid, malgré la grande simplicité de manipulation de cette dernière. Le gain de temps, contact d'une heure et demie contre une diffusion de 24 h., a d'ailleurs été pour nous un facteur déterminant.

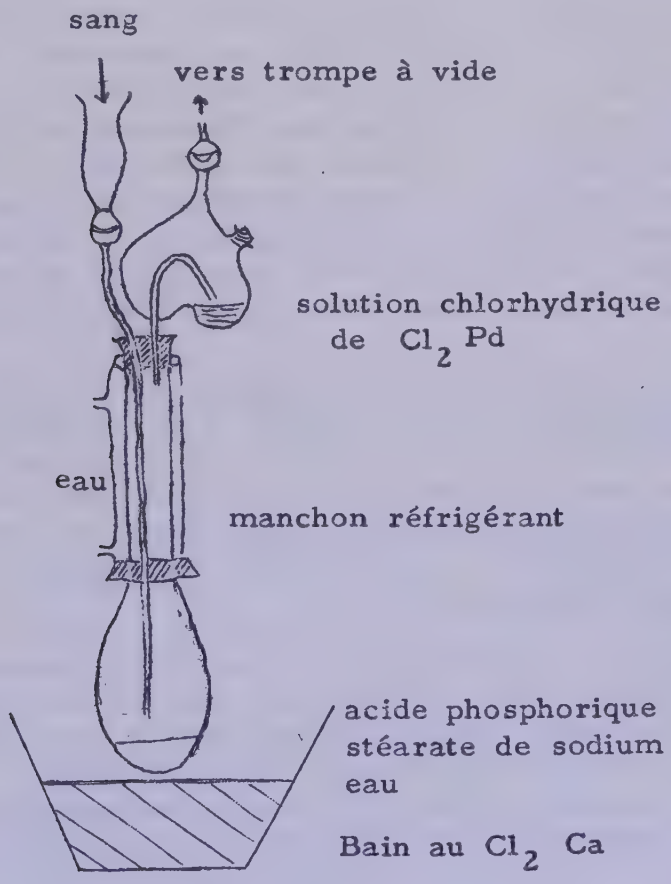
CHAPITRE IV

Technique d'évaluation de l'oxycarbonémie adoptée

A) Extraction des gaz du sang

C'est la technique préconisée par M. Chambon (8) que nous avons préférée et dont nous rappelons ici le détail.

Appareillage : Il consiste en un matras de Kjeldahl de 300 ml dont le col est engaîné d'un manchon réfrigérant. Le bouchon caoutchouc est traversé par un entonnoir à robinet à vide et par la tubulure inférieure d'une ampoule à dilatation sacciforme de 60 ml, surmontée d'un robinet à vide. L'appareil doit tenir parfaitement le vide.



Réactifs :

Solution de Cl_2 Pd en solution chlorhydrique ≠ 4/1000

Acide phosphorique officinal

Antimousse : stéarate de Na en paillettes

Alcool éthylique à 90° désaldéhydé (1)

Bain au chlorure de calcium (Cl_2 Ca 130 g
)
(H_2 O 100 g

Eau bouillie chaude : 1/2 litre

Technique :

Dans le matras nous plaçons : ac. phosphorique off. 10 ml
eau distillée 10 ml
stéarate de sodium environ 5 cg

Dans le diverticule de l'ampoule sacciforme, nous mesurons 1 ml de la solution de chlorure palladeux. (Cette solution est préparée par simple dissolution de 4 g de Cl_2 Pd dans un minimum d'acide chlorhydrique suivie d'une dilution à mille par de l'eau distillée). Après avoir mis le réfrigérant en marche, nous portons l'appareil au bain de chlorure de calciu jusqu'à dissolution du stéarate. Nous éloignons le bain-marie et nous faiso le vide dans l'appareil à l'aide d'une trompe à eau efficace, ceci pendant 5 à 10 minutes. Nous reportons l'appareil au bain-marie, et nous introduisons dans l'ampoule réservoir la quantité de sang exactement mesurée à la pipette à double trait, puis quelques ml d'eau distillée bouillie.

Lorsque la température du bain-marie est remontée vers 90 à 100°, nous laissons pénétrer le sang lentement et par petites fractions sans entrée d'air. De cette façon, les protéines du sang sont instantanément précipitées ce qui évite la formation de mousse, qui, si cela se produit, se montre excessivement gênante et difficile à éliminer. Nous rinçons l'ampoule par quelques ml d'eau distillée bouillie que nous laissons également pénétrer dans l'appareil.

---

(1) Afin d'éviter toute possible réduction du chlorure palladeux par les aldéhydes que peut contenir l'alcool utilisé, nous préconisons l'emploi d'alcool à 90° désaldéhydé de la façon suivante :
ajouter à l'alcool à 90° le 1/10 de son volume d'un mélange à parties égales des solutions : (Ferricyanure de K à 1 %
)
(Perchlorure de fer à 1,5 %

- Puis distiller.

La libération des gaz du sang se produit rapidement. Le bain-marie est maintenu vers 100-110° pendant 15 à 20 minutes. Il est alors retiré et nous faisons pénétrer par l'ampoule de l'eau distillée bouillie jusqu'à affleurement au tube inférieur de l'ampoule au chlorure palladeux.

Les gaz, ainsi rassemblés dans cette ampoule sont laissés, à l'obscurité, une heure et demie en contact avec le chlorure palladeux.

Récolte du précipité de palladium réduit

1) Par centrifugation

Après ce contact, le chlorure palladeux et le palladium réduit sont recueillis dans un tube à centrifuger après addition et rinçage de l'ampoule à l'alcool éthylique désaldéhydé, qui, en abaissant la tension superficielle de la solution de chlorure palladeux, permet une plus facile récupération du palladium réduit.

Nous centrifugeons à grande vitesse pendant 5 à 10 minutes. Le culot de palladium est lavé par deux fois avec 5 ml d'eau distillée qui, au préalable ont servi à rincer l'ampoule à diverticule. Chaque fois, le surnageant est aspiré à la pipette pasteur recourbée.

Ce culot de palladium est prêt pour le dosage.

2) Par filtration

Nous avons préféré à la centrifugation, l'emploi d'un creuset filtrant à plaque en verre fritté de porosité 3, genre tube d'Allihn adapté à la micro-chimie.

En effet, nous avons remarqué qu'il se formait très souvent à la surface des eaux de lavage une fine pellicule de palladium réduit qui persistait même après centrifugation rapide. L'aspiration postérieure du liquide surnageant peut entrainer ce film de palladium, d'où risque d'erreur par défaut.

Après addition d'éthanol désaldéhydé, le contenu de l'ampoule à diverticule ainsi que les eaux de rinçage sont versés lentement sur le creuset filtrant monté sur une fiole à vide. Nous veillons à ce que le palladium réduit se dépose sur la plaque filtrante et non sur les bords du creuset.

Ce dépôt de palladium réduit sec se prête au dosage colorimètrique.

B) Dosage colorimètrique du palladium réduit recueilli

C'est l'application directe de la microméthode colorimètrique proposée.

Réactifs :

Eau régale extemporanée : (acide nitrique d. 1,33 1 volume
)acide chlorhydrique d. 1,19 3 volumes

Solution à 2 % d'alpha-furildioxime dans l'alcool à 60°
Dioxane pur ou technique

Technique :

L'ampoule à diverticule, lavée et séchée, est rincée à l'aide de 0,50 ml d'eau régale qui dissout instantanément les traces de palladium réduit qui ont pu rester sur les parois.

Ces 0,50 ml d'eau régale sont alors recueillis soigneusement dans le creuset filtrant sous lequel nous avons au préalable interrompu le vide. Nous hâtons la dissolution du palladium par une légère agitation. Dès dissolution totale, l'eau régale est aspirée dans une micro-fiole à vide, ainsi que les 2 ml d'eau distillée ayant au préalable servi au rinçage de l'ampoule à diverticule.

Le contenu de la micro-fiole est transvasé dans un ballon jaugé à 10 ml. L'addition d'un ml de la solution du réactif chromogène permet alors la formation du complexe coloré qui précipite.

L'ampoule à diverticule, puis le creuset filtrant, et après aspiration, la fiole à vide, sont rincés plusieurs fois par de petites quantités de dioxane que nous joignons au contenu du ballon jaugé. Nous complètons à 10 ml par du dioxane. L'adjonction de dioxane entraîne après légère agitation la dissolution du précipité. Le développement de la coloration jaune sera total après 15 minutes de repos à l'obscurité.

Un témoin sans palladium, correspondant à l'absorption de base, est conduit parallèlement dans un ballon jaugé à 10 ml.

L'intensité de la coloration est évaluée à l'électrophotomètre de Meunier, écran 43, ou mieux au Spectral-Junior à 400 mμ . Après soustraction de l'absorption de base, un report à la courbe d'étalonnage de l'appareil utilisé nous indique la quantité en micro-grammes de palladium précipité par l'oxyde de carbone de la prise de sang, soit "p".

$$\text{Oxyde de carbone en ml par litre de sang} = \frac{p}{4,76 \times V}$$

avec p = µg de palladium
V = ml de sang utilisé.

Durée totale du dosage

Elle est essentiellement liée au temps de contact entre l'oxyde de carbone isolé et le chlorure palladeux. En effet, le temps nécessaire à l'isolement du palladium réduit et au dosage colorimètrique lui-même n'excède pas 30 minutes.

Une technique d'extraction à chaud a l'avantage de réduire considérablement ce temps de contact par rapport aux techniques à froid qui exigent jusqu'à 24 heures de diffusion.

Nous avons cherché quel est le temps de contact minimum qui assure cependant une totale action de l'oxyde de carbone sur le chlorure palladeux.

Deux auteurs ont utilisé une technique d'extraction à chaud similaire à celle proposée.
M. Chambon préconise un contact de 2 heures à l'obscurité (8).
F. Sérusclat estime que 1 heure de contact est suffisante (44).

Nous avons repris ce problème en effectuant parallèlement les mêmes dosages avec des durées de contact variables.

Voici les chiffres obtenus, exprimés en ml de CO par litre de sang.

N° du sang analysé	Durée du contact "oxyde de carbone - chlorure palladeux"		
	1 heure	1 H 1/2	2 heures
1	1,66		1,89
2	22,50		33,90
3	4,35		5,26
4		10,90	10,90
5		57,50	55,50
6		104,50	101,70
7	17,0	23,0	
8	3,8	4,2	
9	25,2	27,7	
10		11,4	12,1
11		33,7	34,8
12		7,3	6,9

Discussion des résultats

Il y a une bonne reproductibilité des résultats quand nous utilisons une durée de contact "oxyde de carbone-chlorure palladeux" égale ou supérieure à 1 heure et demie.

Mais un contact limité à une heure fournit des résultats constamment en défaut par rapport à ceux correspondant à une durée de contact supérieure. Cette différence est surtout sensible p our les fortes teneurs en oxyde de carbone.

Par contre, une durée de contact de 1 h. 30 semble suffire, les résultats obtenus avec des contacts de 1 h 30 ou de 2 heures étant pratiquement similaires. Le gain d'une demi-heure ainsi réalisé est lié vraisemblablement aux faibles prises d'essai utilisées.

Au total, la durée du dosage avec préparation, extraction, contact, colorimètrie, n'excède pas 2 h 30 à 3 heures, durée pour laquelle le temps de manipulation ne représente qu'une faible part. De plus, une batterie d'extracteurs permet de mener des dosages en série, dans un temp à peine supérieur.

Causes d'erreurs

Mis à part les fautes de manipulation, une possibilité d'erreur semble inhérente à la non totale spécificité du réactif au chlorure palladeux En effet, le pouvoir réducteur qu'il met en valeur n'est pas un attribut du seul oxyde de carbone. Mais en fait, comme l'a étudié Sérusclat (44), dans nos conditions opératoires, ce pouvoir réducteur devient pratiquement spécifique de l'oxyde de carbone : aucun autre gaz, normal ou toxique, extrait d'un sang humain n'est susceptible de réduire de façon sensible le chlorure palladeux, ce que nous avons vérifié à maintes reprises. Seul, l'hydrogène sulfuré provenant d'un sang putréfié, rend un dosage palladomètrique de l'oxyde de carbone ininterprétable.

Certaines conditions dans le prélèvement du sang à analyser sont à respecter

Le sang doit être prélevé sur tube sec et propre hermétiquemen bouché. Avant le dosage, le caillot sera éliminé par passage à travers une gaze. Si l'on préfère un prélèvement sur anti-coagulant, l'héparine ou le fluorure de sodium peuvent être utilisés. Dans ces conditions, on aura soin soit de remplir le tube de prélèvement au maximum, soit d'éviter toute agitation de ce tube. Il est nécessaire que les surfaces de contact air-sang soient aussi limitées que possible, afin d'éviter tout déplacement de l'oxyde de carbone par l'oxygène de l'air. C'est pourquoi un prélèvement sur tube sec semble mieux convenir.

Les prélèvements sur oxalate ou sur citrate, corps susceptibles de donner de l'oxyde de carbone par décomposition à la chaleur, sont à proscrire.

Nous pensons devoir présenter, en un résumé détaillé, la technique finalement adoptée pour le dosage de l'oxycarbonémie.

Réactifs

- Solution de Cl_2 Pd environ à 4 ‰, en milieu légèrement chlorhydrique.
- Acide phosphorique officinal
- Stéarate de sodium en paillettes
- Alcool éthylique à 90° désaldéhydé
- Bain au Cl_2 Ca à 130 %
- Eau distillée bouillie chaude
- Eau régale (NO_3 H densité 1,33 — 1 volume ;) ClH densité 1,19 — 3 volumes
- Solution à 2 % d'alpha-furildioxime dans l'éthanol à 60°
- Dioxane pur ou technique
- Solution de Cl_2 Pd titrée à 1.000 µg de palladium par ml.

Matériel

- Un appareil d'extraction des gaz du sang type Nicloux modifié par M. Chambon (voir page 59).
- Une trompe à vide
- Un creuset filtrant pour micro-chimie de porosité 3, avec sa fiole à vide.
- Un électrophotomètre.
- Des ballons jaugés à 10 ml.

Technique

1) Extraction des gaz du sang.

Nous mesurons dans le Kjeldahl :

Acide phosphorique	10 ml
Eau distillée	10 ml
Stéarate de sodium	4 cg.

Nous plaçons dans le diverticule de l'ampoule sacciforme :

Sol. de Cl_2 Pd à 4 ‰.	1 ml

L'appareil est porté sur le bain au Cl_2 Ca qui est chauffé jusqu'à dissolution du stéarate. Le B.M. est alors retiré, et nous procédons à un vide poussé dans l'appareil. Celui-ci est ensuite reporté sur le B.M., et quand sa température voisine 90°, la quantité exactement mesurée de sang à doser est introduite dans l'appareil par petites fractions ainsi que 5 ml d'eau de rinçage.

L'ébullition vers 110° est maintenue 15 à 20 minutes, après quoi le B.M. est retiré. De l'eau bouillie est alors introduite par l'entonnoir jusqu'à affleurement au tube inférieur de l'ampoule sacciforme. L'appareil est laissé ainsi 1 h. 30 à l'obscurité.

2) Récupération du palladium réduit :

L'ampoule sacciforme est retirée. 3 à 4 ml d'éthanol désaldéhydé y sont additionnés au mélange Cl_2 Pd - Pd réduit. Le tout est versé lentement sur un creuset filtrant monté sur une fiole reliée à une trompe à vide. Ampoule et creuset sont ensuite rincés soigneusement à l'eau distillée puis à l'alcool. Le vide est alors rompu et une fiole à vide de faible capacité est adaptée au creuset.

3) Dosage colorimètrique :

Le palladium réduit est dissout dans 0,50 ml d'eau régale. Dès dissolution totale, l'eau régale, puis les 2 ml d'eau de dilution, sont aspirés dans la fiole puis transvasés dans un ballon jaugé à 10 ml, où l'addition de 1 ml de réactif chromogène permet la formation du complexe. Creuset et fiole à vide sont alors rincés par de petites quantités de dioxane qui permettront la dissolution du complexe et le complément à 10 ml du milieu réactionnel. Celui-ci est laissé, après légère agitation, 15 à 20 minutes au repos à l'obscurité.
Un témoin sans palladium est conduit parallèlement dans un ballon jaugé à 10 ml.

Nous procédons à l'évaluation de l'intensité de la coloration jaune, soit au photomètre de Meunier à 430 $m\mu$ (écran violet),
soit au spectral-junior Jouan à 400 $m\mu$.

Le chiffre lu, diminué du chiffre-témoin (absorption de base), donne par report à la courbe d'étalonnage du photomètre utilisé, le chiffre "p" de μg de palladium réduit par l'oxyde de carbone des "V" ml de sang de la prise d'essai.

L'étalonnage du photomètre sera obtenu à l'aide d'une gamme préparée dans les proportions ci-dessus, correspondant à des quantités de palladium métal allant de 10 à 400 micro-grammes.
Nous utilisons pour cela une solution de Cl_2 Pd titrée à 200 μg de palladium métal par ml obtenue par dilution au 1/5 de la solution titrée-mère à 1000 μg.

Le chiffre d'oxyde de carbone par litre de sang est donné, en ml, par l'application de l'équation :

$$CO = \frac{p}{4,76 \times V}$$

CONCLUSIONS

Nous devons à la publication de Menis et de Rains, préconisant l'utilisation de l'alpha-furildioxime pour le dosage colorimètrique du palladium, les éléments de départ qui nous ont permis la réalisation de ce travail.

1°) Nous avons rappelé une méthode de synthèse de l'alpha-furildioxime et nous l'avons personnellement utilisée.

2°) Nous avons relaté et précisé la spécificité et la sensibilité de la réaction ainsi que la stabilité du complexe coloré "palladium-alpha-furildioxime".

3°) Nous avons montré que la présence simultanée d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique (eau régale) ne gêne en rien la formation de ce complexe intensément coloré en jaune qui présente un maximum d'absorption en milieu aqueux à 420 mμ.

4°) Lorsque la concentration en palladium du milieu réactionnel dépasse certaines limites, ce complexe précipite. Ce précipité est extractible par le chloroforme où le complexe jouit d'une solubilité intéressante. Cependant, par souci de simplification, nous avons cherché à augmenter cette solubilité par addition au milieu réactionnel d'un solvant miscible à l'eau.

Le dioxane nous a procuré les meilleurs résultats, bien que sa présence entraîne un déplacement du maximum d'absorption vers le proche ultra-violet (357 mμ).

5°) Nous proposons une micro-méthode colorimètrique utilisant la réaction étudiée, et permettant l'évaluation rapide de quantités de palladium comprises entre 10 et 700 micro-grammes par lecture photomètrique (écran violet) ou mieux spectrophotomètrique à 400 mμ.

6°) Nous avons également étudié une méthode gravimètrique, s'appliquant à des quantités de palladium de l'ordre du milligramme, par pesée du complexe "palladium-furildioxime" précipité en milieu aqueux à chaud. L'utilisation d'un coefficient de correction (1,026), tenant compte de la très faible solubilité du complexe, nous a paru nécessaire.

7°) Nous avons vérifié l'exactitude de l'équation de Winkler,

$$CO + Cl_2Pd + H_2O = CO_2 + Pd$$

soit 0,01 ml de CO correspondant à 47,6 µg de palladium, en pratiquant des dosages de petites quantités exactement définies d'oxyde de carbone (0,006 à 0,065 ml), le palladium précipité étant évalué par la méthode colorimètrique proposée.

8°) Nous avons ensuite appliqué cette méthode colorimètrique au dosage de l'oxycarbonémie.

- Nous avons préféré une technique d'extraction des gaz du sang par le vide et à chaud, inspirée de la méthode proposée par MM. Chambon et Sérusclat. En effet, la technique de diffusion à froid, en micro-enceinte, nous a fourni des résultats régulièrement en défaut par rapport aux chiffres théoriques. Par contre, la technique d'extraction à chaud et dans le vide permet l'obtention rapide de résultats très satisfaisants.

- Nous avons adopté un temps de contact "oxyde de carbone - chlorure palladeux" d'une heure et demie. Il assure d'une réaction totale et parfaite. Une durée de contact supérieure conserve, d'ailleurs, au dosage toute sa valeur.

En résumé, nous pensons pouvoir présenter une technique adaptée à l'évaluation de l'oxycarbonémie d'origine chronique ou aigue. Cette technique palladomètrique, relativement rapide, est suffisamment sensible pour permettre d'opérer sur de faibles quantités de sang, généralement de l'ordre de 2 millilitres.

Le Président de la Thèse :

VU, le Doyen :

Vu et permis d'imprimer
Lyon, le

Le Recteur, Président du
Conseil de l'Université,

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ALLEN T.H et ROOT W.S.
Méthode au chlorure de palladium, améliorée pour le dosage de l'oxyde de carbone dans le sang.
J. Biol. Chem. ; 1955, 216, n°1, 319-323

- BADINAND A., BOUCHERLE A., SERUSCLAT F.
Dosage polarographique du palladium
J. Med. Bordeaux ; 1957, 5, 621

- BALTHAZARD V.
Détermination spectrophotomètrique du coefficient d'empoisonnement dans l'intoxication oxycarbonique.
Bull. Soc. Chim. biol. ; 1924, 6, 817-827

- BEAMISH F.E. and DALE J.
Determination of palladium by means of Potassium Iodide.
Ind. Engng. Chem. Anal. ; 1938, 10, 697-698

- BEAMISH F.E. and SCOTT M.
Analysis of Platinum Metals. Silver assay bead.
Ind. Engng Chem. Anal. ; 1937, 9, 460-463

- BLAND D.
A micromethod for determination of carbone monoside in the blood.
Austral. J. Exptl. Bio. Med. Sci. ; 1940, 18, 35-47

- BONNEAU M.
Le dosage de l'oxyde de carbone dans le sang.
Thèse en Pharmacie ; 1951, Paris

- CHAMBON M.
Micro-dosage palladomètrique de l'oxyde de carbone dans le sang.
Ann. Biol. Cli. ; 1950, 4, 520-522

- CHAMBON M.
Intérêt pratique de la détection de l'oxyde de carbone dans le sang d'après la méthode de la Pharmacopée Internationale
J. Med. Bordeaux ; 1957, 5, 649

10 - CHARLOT et BEZIER
Méthodes modernes d'analyse quantitative minérale.
Ed. Masson ; Paris, 1949, 625-627

11 - CHENG K.L.
Spectrophotometric determination of Palladium with 2-nitroso-1- naphtol.
Anal. Chem. ; 1954, 26, 1894-1895

12 - CHRISTMANN A.; RANDALL E.L.
A convenient and accurate method for the determination and the detection of carbone monoxide in blood.
J. Biol. Chem. ; 1933, 102, 595-609

13 - CORSON B.B. and MAC ALLISTER R.W.
Oxidation of benzoins to diketones with iodine
J. Amer. chem. Soc. ; 1929, 51 (2), 2822-2825

14 - FABRE R., TRUHAUT R., BERROD F.
Une nouvelle méthode de dosage de l'oxyde de carbone dans le sang.
Ann. Pham. Fr. ; 1951, 9, 625-638

15 - FISCHER E.
Ueber das Furfurol.
Ann. Chem. ; 1822, 211, 214-238

16 - GAHLER A.R. and MITCHELL A.M. with MELLON M.G (Indiana)
Colorimetric determination of nickel with alpha-furildioxine
Anal. Chem. ; 1951, 23, 500-503

17 - HAYES J.R. and CHANDLEE G.C.
Determination of Palladium with beta-furfuraldoxine
Ind. Engng. Chem. (Anal. Ed.) ; 1942, 14, 491-4

18 - HARTMAN W.W. and DICK J.B.
The preparation of furil.
J. Amer. chem. Soc. ; 1933, 55, 1228-1229

19 - KONIG O., CROWELL W.R.
Mikrochem. ver. Mikrochim. Aca ; 1948, 33, 298-300

20 - LAUBIE M.
Techniques de dosage de l'oxyde de carbone dans le sang par la méthode palladomètrique.
Thèse en Pharmacie ; 1957, Bordeaux

21 - LE MOAN G.
Semi-microdosage de l'oxyde de carbone
Ann. Pharm. Fr. ; 1952, 10, 269-276

22 - MACNAIR D.S.
Derivate des Furofns und Furils
Ann. Chem. : 1890, 258, 220-230

23 - MAC NEVIN W.M. and KRIEGE O.H.
Chelation of Platinum Group Metals. Complexometric Titration of Palladium.
Anal. Chem. ; 1955, 27, 535-536

24 - MENIS O. and RAINS T.C.
Colorimetric determination of Palladium with alpha-furildioxine
Anal. Chem. ; 1955, 27, 1932-1934

25 - MOUREU H., CHOVIN P., TRUFFERT L. et LEBBE J.
Nouvelle microméthode pour la détermination rapide et précise de l'oxycarbonémie, par absorption sélective dans l'infrarouge.
Archives des Maladies Professionnelles ; 1957 18, n°2, 116-124.

26 - NICLOUX M.
L'oxyde de carbone et l'intoxication oxycarbonique
Ed. Masson, Paris, 1925, 197-204

27 - NICLOUX M. et BALTHAZARD V.
Coefficients d'empoisonnement dans l'intoxication mortelle oxycarbonique chez l'homme.
C.R. Acad. Sci. ; 1925, 152, 1787

28 - OVERHOLSER L.G. and YOE J.H.
The colorimetric detection and determination of palladium with compounds containing the p-nitrosophenylamino group.
J. Amer. chem. Soc. ; 1941, 63, 3224-3229

29 - OKAMOTO K., MIKAMI G., NISIDA M.
Acta Schol., Med. univ. imp. Kioto ; 1939, 22, 382

30 - PALLAUD R.
Dioxines and monoximes of the diketones as analytical reagents
Chim. anal, ; 1951, 33, 239-244

31 - PARNAS et SIENAWSKI
Eine photometrische methode zur bestimmung des kohlenoxyds im Blute
Biochem. Zeits. ; 1933, 266, 102-106

32 - PASCAL
Traité de Chimie minérale ; tome XI, 784

33 - PESHKOVA V.M., GROMOVA M.I. (Moscou)
Colorimetric determination of rhenium with the use of dioximes
Chem. abstracts ; 1953, 5301 g

34 - PESHKOVA V.M., SHKENSKAYA V.I. RASHEVSKAYA A.
Vest. Moskovsk. univ. ; 1954, 5, 83

35 - PESHKOVA V.M., GONCHARAVO G. A., GROBOVA Ye PUZDRENKOVA I.V.
Zh. anal.Khim. ; 1953, 8, 114

Ces deux références sont citées dans "The Use of organic reagents in inorganic analysis", (34) p. 57 et (35) p. 55 de BUSEV A.I., POLIANSKII N.G. ; 1960, Pergamon Press.

36 - PIETERS et HANSSEN
Détermination du degré de saturation oxygénée du sang à l'aide du photomètre de Leifo.
Rec. trav. chim. Pays-Bas ; 1948, 67, 782-794

37 - POLLARD W. B.
Separation and microdetermination of Palladium
Analyst ; 1942, 67, 184-186

38 - PSCHEMISTSYN N.K., NEKRASOVA G.A.
Complex compounds of Palladium, Platinum and Rhodium with salicylaldoxime, benzoin-alpha-oxime and furil-alphadioxime.
Chem. abstracts ; 1956, 9926 c.

39 - RAMEL P. et LAUBIE M.
Dosage de l'oxyde de carbone du sang par colorimétrie du chlorure de palladium.
Note présentée devant la Société de Pharmacie de Lyon, 1956 (mars)

40 - REED S.A. and BANKS Ch. V.
Determination of Palladium and Nickel with alpha-furildioxine
Proc. Iowa. acad. Sci. ; 1948, 55, 267-275

41 - REED S.A., BANKS Ch. V. and DIEHL H.
The preparation of alpha-furildioxime
J. org. chem. ; 1947, 12, 792-793

42 - RICE E.W.
Photometric Determination of microgram quantities of Palladium with beta-furfuraldoxime
Anal. Chem. ; 1952, 24, 1995-1997

43 - SANDELL E.B.
Colorimetric determination of traces of metals
Interscience Publishers, New-York ; 1959, 714-720

44 - SERUSCLAT F.
Détermination palladomètrique de l'oxycarbonémie
Thèse en Pharmacie, Lyon, 1949

45 - SOGANI N.C., BATTACHARYYA S.C.
3-hydroxy-1-p-sulfonatophenyl-3-phenyltriazine as a colorimetric reagent of Palladium.
Anal. Chem. ; 1957, 29, 397-400

46 - WENNESLAND R.
A new method for the determination of carbone monoxide in blood
Acta Phys. Scand. : 1940-41, 1, 49-69

47 - WINKLER L.W.
Halbmikroverfahren zur bestimmung des in die Luft gelangten Kohlenoxydes.
Z. anal. Chem. ; 1934, 97, 18-27

48 - WOLFF E.
Une méthode très simple pour la détermination de petites quantités d'oxyde de carbone dans le sang.
Ann. Méd. Lég. ; 1947, 6, 221-222

49 - YOE J.H. and KIRLAND J.J.
Separation of platinum and palladium and their subsequent colorimetric determination with p-nitrosodimethylaniline.
Anal. Chem. ; 1954, 26, 1335-1339

50 - YOE J.H. and OVERHOLSER L.G.
The colorimetric determination of Palladium with p-nitrosodiphenylamine.
J. Amer. Chem. Soc. ; 1939, 61, 2058-2063

51 - ZIEGLER M., GLEMSER O.
Nachweis von Palladium mit Piaselenol
Z. anal. Chem. ; 1955, 146, 29-32

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 1

PREMIERE PARTIE : l'alpha-furildioxime 2

- Chapitre I : Rappel de quelques techniques de micro-dosage du palladium 3

- Chapitre II : A - Etude bibliographique 7
  B - Synthèse de l'alpha-furildioxime 10
  C - Propriétés et spécificité du réactif 13

- Chapitre III : A - Vérification des travaux antérieurs 17
  B - Essais de solubilisation du complexe 20
  C - Etude de la réaction en milieu dioxanique 21
  D - Adoption d'une technique de dosage colorimètrique du palladium réduit 26
  E - Etalonnage du dosage 27
  F - Etude critique de ce micro-dosage 34

- Chapitre IV : Dosage pondérale du palladium par l'alpha-furildioxime 36

DEUXIEME PARTIE : application au dosage de l'oxycarbonémie 38

- Chapitre I : travaux antérieurs 43
- Chapitre II : Etude de la réaction "OC - Cl_2 Pd" 49
  A - Etude théorique, équation utilisée 49
  B - Vérification expérimentale 52

- Chapitre III : Choix d'une technique d'extraction des gaz du sang 55

- Chapitre IV : Technique d'évaluation de l'oxycarbonémie adoptée. Etude du temps de contact "OC - Cl_2Pd" 59

- Résumé de la technique de dosage de l'oxycarbonémie 65

CONCLUSIONS 67

BIBLIOGRAPHIE 69

Imprimé au Centre Régional de Documentation Pédagogique - 47, rue Philippe de Lassalle - LYON (4e)